ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



FÜNFTER BAND

MIT 142 TEXTFIGUREN UND 31 TAFELN



LEIPZIG
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1910

Inhalt des fünften Bandes

Erstes Heft

Ausgegeben am 31. Mai 1910

Zweites Heft

Ausgegeben am 2. August 1910

Seite

Drittes Heft

Ausgegeben am 18. Oktober 1910

Referate:

Viertes Heft

Ausgegeben am 15. November 1910

Über die Rolle der Centralspindel während der indirekten Zellteilung.

Von

Kristine Bonnevie.
(Kristiania.)

Mit 4 Textfiguren und Tafel I—III.

Bei einer Durchsicht der Literatur über Zellteilungsmechanik wird man von den großen Schwierigkeiten dieses Problems einen lebhaften Eindruck bekommen. Kaum zwei Verfasser sehen die Frage von demselben Gesichtspunkt aus an. — Selbst wenn die Theorien, die in den karyokinetischen Strahlungen permanente, auf den Cytocentren inserierte Zellstrukturen sehen (Heidenhain, Kostanecki u. a.), im Lichte der neueren Forschung aus dem Spiel gelassen werden können, haben wir doch noch eine ganze Reihe Auffassungen vor uns, die zum Teil auf sehr wesentlichen Punkten voneinander verschieden sind.

Alle neueren Versuche[1]), die Mechanik der Zellteilung zu erklären, haben das eine gemeinsam, daß sie in den Cytocentren die Erreger der karyokinetischen Tätigkeit erkennen. Damit ist aber auch die Einigkeit zu Ende. — Sind die Cytocentren einer karyokinetischen Figur beide (oder alle) in gleicher Weise wirksam [Bütschli, Rhumbler, Boveri, Wilson, Teichmann, Baltzer, Gallardo (spätere Arbeiten) u. a.], oder sind sie als »duale« Pole mit entgegengesetzten Vorzeichen [Gallardo (frühere Arbeiten), Reinke, Hartog] zu betrachten? — Ist, mit andern Worten, die achromatische Zellteilungsfigur als Ausdruck der zwischen solchen Polen existierenden Kraftlinien aufzufassen, oder läßt sie sich durch anderweitige Veränderungen im Cytoplasma erklären?

[1]) Eine übersichtliche Darstellung der modernen Theorien ist von Baltzer (1908) gegeben worden.

Werden die Bewegungen der Cytocentren durch ihre eigene Aktivität bewirkt, während die achromatischen Spindeln gegen ihre Entfernung Widerstand üben (M. Boveri, Baltzer) — oder wird diese Entfernung gerade durch das Wachstum der Spindel bewirkt (Meves Bonnevie)? — In naher Verbindung mit dieser Frage steht auch eine andre über die Natur der einzelnen Strahlen. Sind sie während der Mitose als substanzielle, sich verkürzende oder an Länge zunehmende Fädchen (Van Beneden, Th. Boveri, Meves) oder nur als der Ausdruck verschiedener innerhalb des Cytoplasmas vor sich gehender Bewegungen (Wilson, Teichmann) anzusehen, oder lassen sich die verschiedenen Strahlengruppen vielleicht nicht von demselben Gesichtspunkt aus betrachten, weil sie unter sich nicht gleichwertig sind (Bonnevie)?

Diese und andre Fragen werden sich bei einer Durchmusterung der in der Zellteilungsliteratur zurechtgelegten Tatsachen mit den aus denselben gezogenen Schlüssen unwillkürlich stellen müssen, ohne daß sie in dem vorliegenden Material eine endgültige Antwort bis jetzt gefunden haben. — Keine der aufgestellten Theorien hat auf alle die vorliegenden Tatsachen ihre Anwendbarkeit bewiesen, was bei der so allgemeinen Übereinstimmung der Karyokinese in den verschiedensten Objekten von einer Zellteilungsmechanik wohl unbedingt verlangt werden muß.

Durch eingehende Betrachtung der Zellteilungsvorgänge, sowohl auf lebendem als auf fixiertem Material, bin ich zu der Überzeugung geführt worden, daß in den meisten Erklärungsversuchen die Rolle der Centralspindel bei der Zellteilung zu wenig berücksichtigt worden ist. — Die ganze karyokinetische Spindel ist wohl in ihrem Verhalten oft genug verfolgt worden, relativ selten aber ihre einzelnen Komponenten, die Centralspindel und die Zugfasern für sich allein; und doch darf nicht vergessen werden, daß diese beiden allem Anschein nach unter sich verschieden sind. Die Centralspindel ist durch die Wirksamkeit beider Centren entstanden, während die Zugfasern durch eine Zusammenwirkung der Centren mit den Chromosomen gebildet worden sind; man darf daher auch nicht a priori voraussetzen, daß beide Bildungen sich während der Karyokinese gleich verhalten. Was wir in der normalen Karyokinese zu Gesicht bekommen, kann nur als die Resultante der in Centralspindel und Zugfasern gleichzeitig wirkenden Kräfte angesehen werden; nur ausnahmsweise kommen uns Bilder vor Augen, die eine getrennte Untersuchung beider Komponenten der karyokinetischen Spindel erlauben.

Jedesmal aber, wenn solche Beobachtungen der Centralspindel als Grundlage für Erwägungen über Zellteilungsmechanik gedient haben, dann sind auch Resultate erreicht worden, die in die übrigen Theorien sich nicht hineinpassen lassen. — So wurde z. B. von Meves (1897) nach Untersuchungen über die männlichen Keimzellen des Salamanders, deren Centralspindeln eine außergewöhnliche Entwicklung zeigen, der Schluß gezogen, daß die gegenseitige Entfernung der Centren durch das Längenwachstum der Centralspindel verursacht wird. — So bin auch ich durch Beobachtungen an den abnorm stark entwickelten Centralspindeln der Polocyten von *Enteroxenos* zu einem ähnlichen Resultat geführt worden, obwohl meine Prämissen von denjenigen von Meves wesentlich verschieden waren. Ich habe dann auch (1906, S. 317—338) nach eingehenden Studien der Reifungsteilungen des *Enteroxenos*-Eies den Umriß einer Zellteilungsmechanik gezeichnet, die — soweit ich gefunden habe — nicht nur Punkt für Punkt mit den schönen Strahlungserscheinungen dieses Objektes aufs beste übereinstimmt, die aber auch unter den in der Literatur vorliegenden Tatsachen bis jetzt keinen wirklichen Widerspruch gefunden hat.

Wenn ich jetzt wieder zu derselben Frage zurückkomme, geschieht dies einerseits, um eine Reihe neuer Tatsachen, die für ihre Lösung von Interesse sind, zu veröffentlichen, andrerseits aber auch um einige weitere Punkte, in denen zwischen meiner Auffassung und den Befunden andrer Forscher ein Gegensatz zu bestehen scheint, zur Diskussion aufnehmen zu können.

Damit ich nicht zu oft genötigt werde, auf meine frühere Arbeit hinzuweisen, werde ich im folgenden die Hauptzüge meiner schon veröffentlichten Resultate kurz zusammenfassen.

In Übereinstimmung mit Van Beneden, Boveri u. a. habe ich die Zugfasern als mehr oder weniger feste Verbindungen unbekannter Art zwischen Chromosomen und Centren auffassen müssen — in Übereinstimmung mit andern Forschern (Bütschli, Wilson, Teichmann u. a.) habe ich dagegen in der Centralspindel und den Polstrahlungen die Ausdrücke einer strömenden Bewegung im Cytoplasma zu sehen geglaubt. — Insoweit wurde in meinen Auseinandersetzungen nichts Neues erhalten; in betreff der Ausformung dieses karyokinetischen Strömungsbildes aber war meine Auffassung in einem wesentlichen Punkt von den früheren Theorien verschieden, darin nämlich, daß in der Centralspindel eine derjenigen der Polstrahlung entgegengesetzte Strömungsrichtung vorausgesetzt wurde.

Während in den Polstrahlungen, in Anlehnung an die Resultate Teichmanns (1903), für die früheren Teilungsphasen eine centripetale Strömungsrichtung als charakteristisch betrachtet wurde, ließ sich in der Centralspindel eine von beiden Centren her in die Spindel hineingerichtete Bewegung sicher vermuten. Die Centralspindel wäre somit neben den hellen Umgebungen beider Centren als eine Verdichtungszone zu betrachten, deren Druck im Laufe der Pro- und Metaphase in stetiger Steigerung begriffen sei. — Der Höhepunkt dieser Spannung der Centralspindel würde unter Mitwirkung der Zugfasern erreicht werden. Auf Grund der fortwährenden Anlagerung von Hyaloplasma an beiden Enden der Centralspindel, würde die letztere an Länge zunehmen, d. h. die Centren würden dadurch auseinandergetrieben werden. Solange die Verlängerung der Centralspindel ohne Widerstand geschehen konnte, wäre für eine Steigerung ihrer Spannung auch kein Grund vorhanden. Die Zugfasern, die zwischen Chromosomen und Centren eine feste Verbindung bilden, müßten aber gegen eine Entfernung der letzteren einen immer stärkeren Widerstand üben, bis zuletzt, bei völliger Streckung der Zugfasern, eine weitere Verlängerung der Centralspindel ausgeschlossen, eine steigende Spannung mit kugeliger Wölbung derselben dagegen bewirkt werden müßte.

In der frühen Anaphase würde bei dem Aufhören der verdichtenden Wirksamkeit der Centren die Strömung in die Centralspindel hinein zum Stillstand kommen. Auf diesen Stillstand würde aber notwendigerweise eine mehr oder weniger rasch verlaufende Rückströmung des stark verdichteten Hyaloplasmas folgen müssen, wodurch das Gleichgewicht im Cytoplasma wiederhergestellt werden könnte. Erst nach dieser Umkehr der Strömungsrichtung könnten die für eine Zelldurchschnürung günstigen Bedingungen zustande kommen, indem in der Äquatorebene eine Zone niederen Druckes hergestellt werden würde; während der früheren Teilungsphasen dagegen würde die Centralspindel mit ihrer starken Spannung geradezu als ein Hindernis für die Zellteilung aufzufassen sein.

Dies sind die Hauptzüge der auf Grundlage meiner *Enteroxenos*-Untersuchungen gezogenen Schlüsse, für deren detaillierte Ausformung und Begründung ich auf meine frühere Arbeit (1906) hinweisen möchte.

Wie schon oben erwähnt, steht die hier verfochtene Auffassung auch mit den an andern Objekten gewonnenen Resultaten sehr wohl im Einklang. Besonders möchte ich hier auf die sehr interessanten

Untersuchungen von FISCHEL (1899 u. 1906) hinweisen, in denen er mittels vitaler Färbung die Bewegungen gewisser in den *Echinus*-Eiern befindlicher Körnchen sichtbar gemacht hat. Es geht aus diesen Untersuchungen deutlich genug hervor, daß im Gebiet der Polstrahlungen eine Bewegung gewisser Cytoplasmabestandteile während der früheren Teilungsphasen in centripetaler, während der späteren dagegen in centrifugaler Richtung stattfindet; ebenso deutlich sieht man aber auch, daß die karyokinetische Spindel nicht mit den Polstrahlungen, sondern nur mit den die Centren umgebenden hellen Zonen ihrer Natur nach übereinstimmt. — Wenn die Helligkeit dieser Zonen als Ausdruck einer Hyaloplasmaverdichtung angesehen wird, scheint daher kein Grund zu existieren, um nicht auch in der Spindel, die mit den letzteren ein kontinuierliches Ganzes zu bilden scheint, eine ebensolche Verdichtung vorauszusetzen.

Meine Annahme einer entgegengesetzten Strömungsrichtung in Polstrahlung und Centralspindel bedarf jedoch, bevor sie eine allgemeine Geltung beanspruchen kann, besonders auf einem Punkt eine eingehende Prüfung. — Wenn die Centralspindel, wie ich glaube, als eine in bestimmte Bahnen eingelenkte Stauung des durch die beiden Polstrahlungen hergebrachten Materials zuerst entstanden ist, und wenn daher die gegenseitige Entfernung der Cytocentren in einer Verlängerung dieser Spindel ihren Grund haben soll, dann muß es eine unumgängliche Voraussetzung sein, daß die Centren beim Beginn ihrer Wirksamkeit einander nahe genug gelegen sind, um dem umliegenden Cytoplasma gegenüber als ein Ganzes wirken zu können.

Ein einzig daliegendes Cytocentrum, das aus irgend einem Grunde auf das umgebende Hyaloplasma anziehend wirkt, wird ja nämlich von allen Seiten her, also innerhalb des Bereiches einer ganzen Kugelfläche, eine centripetale Strömung hervorrufen, während das um das Cytocentrum verdichtete Hyaloplasma sich in eine gleichmäßig entwickelte helle Zone um dasselbe herum ansammeln wird. — So auch, wenn in einer Zelle mehrere Centren vorhanden sind, die unter sich so weit entfernt sind, daß sie unabhängig voneinander ihre Wirkung auf die Umgebungen ausüben können; um jedes derselben wird sich eine allseitige centripetale Strömung, eine typische Polstrahlung, entwickeln können, während in solchen Fällen für die Entstehung einer auf einen Kugelsektor begrenzten centrifugalen Strömung kein Grund vorliegt.

Wenn aber zwei Centren beim Beginn ihrer Wirksamkeit einander so nahe liegen, daß sie auf die Umgebungen als ein Ganzes

wirken müssen, d. h. daß die von beiden ausstrahlenden Radien annähernd zusammenfallen, dann wird auch jedes derselben in seiner Wirksamkeit teilweise gehemmt werden. Die zuerst entstehende centripetale Strömung wird hier auf beide Centren als ein Ganzes gerichtet sein, und nur die eine Hälfte des kugeligen Strömungsbereiches gehört daher sozusagen jedem Cytocentrum an. Auf der gegen das Nachbarcentrum hingekehrten Seite können beide Centren keinen Hyaloplasmazufluß bewirken: es wird daher zwischen den Centren eine Stelle existieren müssen, wo Hyaloplasma aufgestaut werden kann, und wo es bei einem fortwährenden Zufluß von außen her auch aufgestaut werden muß; mit dieser steigenden Ablagerung von Hyaloplasma zwischen beiden Centren wird der Abstand zwischen diesen vergrößert. So lange die strömungserregenden Kräfte dieselben bleiben und kein äußerer Widerstand die Bewegung zu hemmen vermag, so lange wird auch die Strömung ihre einmal angenommene Richtung — auf die beiden Centren zu und in den zwischen diesen liegenden Raum (die Centralspindel) hinein — beibehalten müssen.

Eine karyokinetisch wirksame Centralspindel muß, nach dem obigen, auf allen Stadien ihrer Entwicklung zwischen beiden Centren eine kontinuierliche Brücke gebildet haben, und zwar muß sie schon von einer Zeit an existieren, als die beiden Centren einander nahe genug gelegen waren, um ihre Strömungsgebiete gegenseitig zu beschränken. Der Ursprung beider Centren, ob sie durch Teilung eines Muttercentrums entstanden, oder ob sie in andrer Weise zusammengeführt worden sind, dies bleibt für unsre Frage ganz gleichgültig, wenn sie nur im Augenblick der Einleitung ihrer Wirksamkeit nicht über einen gewissen Abstand voneinander entfernt waren.

Unsre Auffassung der Centralspindel als eine in bestimmte Bahnen eingelenkte Aufstauung des durch die beiden Polstrahlungen hergebrachten Materiales wird daher auch mit dem Nachweis stehen oder fallen müssen, daß nur »primäre« (beim Auseinanderweichen naheliegender Centren entstandene) Spindeln karyokinetisch wirksam sein können, während die »sekundären« (durch Vereinigung zweier vorher getrennter Sphären entstandenen) Spindeln nicht genügen, um eine Karyokinese glücklich zu Ende zu bringen. — Wenn diese Voraussetzung bei einer eingehenden Prüfung der Zellteilungsvorgänge sich nicht stichhaltig erweisen sollte, dann ist für die erste Entstehung sowie für das spätere Verhalten der Centralspindel eine befriedigende Erklärung bis jetzt noch nicht gegeben worden.

Eine Lösung der hiermit verknüpften Fragen läßt sich durch Untersuchung vornehmlich zweier Stadien der Embryonalentwicklung erhoffen, erstens nämlich durch Beobachtungen über die Entstehung normaler und abnormer Strahlungsfiguren im ungeteilten Ei, und zweitens durch ein genaues Verfolgen der Entwicklung achromatischer Strukturen während der ersten Furchungsteilungen, wenn die Blastomeren noch genügend groß sind, um ein solches Verfolgen zu erlauben.

Es liegen, wie bekannt, über diese beiden Stadien eine ganze Reihe von Beobachtungen vor, die beim ersten Anblick teils mit der oben erörterten Auffassung der Centralspindel sehr wohl übereinzustimmen, teils aber auch zu derselben in direktem Widerspruch zu stehen scheinen. — Eine nähere Besichtigung dieses Materiales ergibt aber, daß die vorliegenden Beobachtungen nur ausnahmsweise für unsre Frage als entscheidend betrachtet werden dürfen. Teils ist in vielen Beschreibungen eine Trennung zwischen »primären« und »sekundären« Spindeln nicht scharf genug durchgeführt, teils sind, besonders in Beschreibungen der Furchungsteilungen, die allerersten Stadien der Spindelbildung aus verschiedenen Gründen nicht besprochen worden.

Meine unten dargestellten Befunde werden zur Genüge dartun, daß eine Untersuchung voll entwickelter Spindeln für Schlüsse über die Natur derselben keine sichere Grundlage abgeben. Völlig gleich aussehende Spindeln können unter Umständen sowohl verschiedenen Ursprungs sein als auch eine ganz verschiedene Bedeutung haben. — Nur eine Beobachtungsreihe, die auf lebendem oder fixiertem Material die ganze Geschichte einer und derselben Spindel zutage legt, wird für die Frage nach der Natur dieser Spindel als Grundlage dienen können.

Ein günstiges Material für solche Untersuchungen habe ich in den Eiern von *Nereis limbata* vorgefunden. Nicht nur kommen hier sehr große und deutliche Strahlungen zum Vorschein, die ohne Schwierigkeit vom Anfang bis zum Ende ihrer Wirksamkeit verfolgt werden können, sondern die in den *Nereis*-Eiern auftretenden Spindeln zeigen auch gewisse Eigentümlichkeiten, die für eine Lösung der Frage nach der Natur der Centralspindel von Interesse sind.

Bevor ich auf eine weitere Diskussion dieser Frage eingehe, werde ich daher zuerst die im *Nereis*-Ei von Anfang der zweiten Reifungs- bis zum Anfang der zweiten Furchungsteilung zum Vorschein kommenden Strahlungen kurz beschreiben.

Strahlungserscheinungen in Nereis limbata.

Meine Untersuchungen wurden auf dem früher für Chromosomenstudien (1908) benutzten Material der *Nereis*-Eier, das im Sommer 1907 auf der biologischen Station zu »Wood's Hole« Mass. von mir eingesammelt wurde, vorgenommen. Die Eier waren in verschiedener Weise fixiert, hauptsächlich jedoch in Pikrinessigsäure und mit Flemmingscher Flüssigkeit. Diese beiden Fixationsmethoden haben in allem für unsre Frage Wesentlichen die gleichen Resultate ergeben. Nur schienen die Strahlungscentren in dem Pikrinessigsäurematerial viel kleiner und viel stärker färbbar zu sein als in den Flemming-Präparaten ganz entsprechender Stadien (vgl. Fig. 18 u. 20).

Bei der aus diesem Verhalten folgenden Unsicherheit einer morphologischen Beurteilung der Cytocentren werde ich in meiner Beschreibung die beiden Worte »Centrosom« und »Centriol« vermeiden.

Die achromatischen Strukturen der beiden Reifungsteilungen zeigen in *Nereis* an und für sich nichts Merkwürdiges; sie stimmen in allem Wesentlichen mit den entsprechenden Strukturen andrer Objekte überein. — Die Eigentümlichkeit der *Nereis*-Eier besteht aber in einer konstant auftretenden Verbindung zwischen dem Spermocentrum mit seiner Strahlung auf der einen Seite und der achromatischen Figur der zweiten Reifungsteilung auf der andern. Am auffälligsten sieht man diese Verbindung während der mittleren Stadien dieser Teilung (Taf. I, Fig. 4), indem hier eine sehr charakteristische Doppelspindel zum Vorschein kommt.

Die Spindel der zweiten Reifungsteilung ist, wie gewöhnlich auf diesem Stadium, radiär auf der Eioberfläche eingestellt; das Spermocentrum wird weiter innen, aber in demselben Radius vorgefunden. Der Abstand zwischen dem inneren Ende der Teilungsfigur und dem Spermocentrum ist dabei ungefähr so groß wie die Länge der Spindelachse. — Ganz konstant sieht man nun in diesem Zwischenraum eine schön entwickelte Spindel ausgespannt, die sich anscheinend nur durch ihren Mangel an Chromatin von der Reifungsspindel unterscheidet. Der in Auflösung begriffene Spermakern liegt an der Seite des Spermocentrums, ohne noch zu den Strahlungen in Beziehung getreten zu sein.

Beim Anblick eines solchen Bildes, von denen ich eine beliebige Anzahl demonstrieren könnte, werden sich sogleich eine Reihe Fragen stellen müssen, deren Beantwortung den ursprünglichen Zweck meiner Untersuchung bildete. — Sind diese beiden gleich aussehen-

den und nebeneinander existierenden Spindeln auch unter sich gleichwertig? In welchem Verhältnis wird die neue Spindel, die zwischen dem Spermocentrum und einem Eicentrum ausgespannt ist, zu der zunächst folgenden Furchungsteilung stehen? Ist sie mit der Centralspindel dieser Teilung identisch, oder geht sie nur teilweise in dieselbe über, oder endlich, ist sie als eine Bildung *sui generis* aufzufassen, die mit der Karyokinese nichts zu tun hat? Eine Beantwortung dieser Fragen wird auch für die Frage nach dem gegenseitigen Verhältnis der beiden Centren der besprochenen Spindel von Interesse sein. — Werden nach vollendeter Reifung des Eies diese beiden noch bestehen bleiben, um zusammen oder getrennt die Furchungscentren zu liefern? — Oder wird, wie es die Befruchtungstheorie Boveris (1892) verlangt, das Eicentrum am Ende der Reifungsteilung verschwinden, während das Spermocentrum allein die beiden Furchungscentren zu liefern kommt?

Um diese Fragen beantworten zu können, habe ich den Ursprung und das weitere Schicksal der hier besprochenen Strukturen möglichst genau verfolgt; die Resultate dieser Untersuchung werde ich im folgenden auseinandersetzen.

Wir fangen mit einem Stadium aus der Prophase der zweiten Reifungsteilung an, von welchem Fig. 1 ein Bild zeigt. Man sieht die junge Reifungsspindel der Oberfläche des Eies dicht anliegend, und zwar ist sie von einer feinkörnigen Cytoplasmamasse umgeben, die gegen die tropfenförmigen Fetteinlagerungen des übrigen Zellkörpers scharf abgesetzt ist. — Am Rande dieser feinkörnigen Zone, aber auch ganz oberflächlich im Ei sieht man den birnförmig gestalteten Spermakern, an dessen spitzem Ende eine monocentrische Strahlung sichtbar ist.

Fig. 2 zeigt ein etwas späteres Stadium. Die Reifungsspindel hat ihre charakteristische, radiäre Lage eingenommen, während der jetzt in Auflösung begriffene Spermakern ins Innere des Eies hineingerückt ist; — das Spermocentrum, das während des Hineinrückens voranging, ist in dem von der Reifungsspindel eingenommenen Radius stehengeblieben. Seine Strahlung hat an Größe beträchtlich zugenommen, doch ohne daß sie mit der Polstrahlung der Reifungsspindel in Berührung gekommen ist. Zwischen beiden ist immer noch eine Strecke undifferenzierten Cytoplasmas vorhanden. — Bei einer weiteren Ausbreitung beider Strahlungen müssen sie aber bald ineinander übergreifen, was auch mit größter Klarheit aus den Bildern späterer Stadien hervorgeht (Fig. 3—7).

Durch die Vereinigung dieser beiden vorher getrennten Strahlungen wird die schon oben besprochene Spindel zwischen Ei- und Spermocentrum gebildet. Trotz ihres verschiedenen Ursprungs stimmt sie mit einer primären Centralspindel anscheinend völlig überein, vor allem in ihrer schön abgerundeten Form und in der scharfen Begrenzung gegen die Umgebungen. Zuweilen sieht man sogar an jeder Seite der Spindel das für die karyokinetische Figur so charakteristische strahlenarme Dreieck (Bütschlis »Raum«), dessen zwei Seiten von den von beiden Centren radiär verlaufenden Polstrahlen, die dritte von der schwach konvexen Spindeloberfläche geliefert werden.

Ich habe mich sehr bemüht, den Verlauf der einzelnen Fasern dieser Spindel zu konstatieren; es war mir aber nicht möglich, sicher zu entscheiden, ob einzelne Fasern vom einen Centrum bis zum andern kontinuierlich verfolgt werden könnten, oder ob ein solches Bild nur durch eine parallele Lage zweier den beiden Centren angehörigen Fasern vorgetäuscht würde. Dieselbe Schwierigkeit macht sich aber auch oft mit Bezug auf primäre Spindeln geltend. Die äußere Ähnlichkeit beider Spindeln ist in der Tat während der mittleren Teilungsphasen so groß, daß man sich unwillkürlich fragen muß, ob sie nicht trotz ihres verschiedenen Ursprungs jetzt doch eine ähnliche Bedeutung erreicht haben.

Die weitere Entwicklung beweist aber, daß dies nicht der Fall ist. Eine primäre Centralspindel nimmt unter Entfernung ihrer Centren konstant an Länge zu; statt dessen sehen wir diese sekundäre Spindel immer kürzer werden und ihre Centren sich rasch nähern (Fig. 3, 4, 7, 10). — Zuletzt finden wir, auf dem Stadium der Fig. 12—14, anstatt der ursprünglichen zwei Centren, deren nur eins.

Die beiden Vorkerne, deren Entwicklung in einer früheren Arbeit (Bonnevie 1908) beschrieben worden ist, sind zuerst (Fig. 12) an verschiedenen Seiten des Centrums, jedoch in etwa gleichgroßem Abstand von demselben, gelegen. Später rückt aber der Spermakern weiter an die Oberfläche des Eies heran, bis er an der Seite des Eikerns zu liegen kommt (Fig. 13).

Daß auf diesem Stadium auch wirklich nur ein Centrum vorhanden ist, geht aus einer Untersuchung der aufeinanderfolgenden Schnitte eines und desselben Eies sowie durch einen Vergleich mehrerer in verschiedenen Richtungen geschnittener Eier mit Sicherheit hervor. Fig. 13 und 14, von denen die erstere einen Medianschnitt der betreffenden Region des Eies, die letztere einen dem Eiäquator parallelen Flächenschnitt wiedergeben, werden genügen, um dies zu

demonstrieren. In beiden Fällen sieht man ein deutliches Centrum, aber auch nur eines, das auf der inneren Seite beider Vorkerne gelegen und von einer wohlentwickelten Strahlung umgeben ist.

Wie unten gezeigt werden soll, gehen die beiden Furchungscentren durch Teilung dieses einen Centrums hervor. Diese Tatsache ist über jeden Zweifel erhaben. — Schwieriger ist es aber, genau zu entscheiden, in welcher Weise dies Centrum selbst entstanden ist. Ist es durch Verschmelzung der beiden früher vorhandenen, sich nähernden Centren der inneren Spindel entstanden? Oder ist das eine dieser Centren als Furchungscentrum bewahrt worden, während das andre verschwunden ist? — Im ersteren Fall würde das Furchungscentrum durch Zusammenwirkung von Ei- und Spermazelle geliefert werden, im zweiten Fall von der einen oder andern dieser Zellen allein.

Meine Präparate geben auf diese Frage keine ganz definitive Antwort, doch sprechen sie sehr stark zugunsten der schon weit verbreiteten Auffassung, daß das Furchungscentrum von dem Spermocentrum herstammt.

Gegen die Annahme einer Beteiligung des Eicentrums an der Bildung eines Furchungscentrums spricht zunächst die während der späteren Phasen der zweiten Reifungsteilung stetig vorschreitende Abschwächung seiner Polstrahlung, zur selben Zeit wie die Strahlung des Spermocentrums mächtig heranwächst. Auch die Lage des Eicentrums ist von derjenigen des Furchungscentrums verschieden; es wird nämlich immer in unmittelbarer Nähe der sich entwickelnden Kernvakuolen vorgefunden, das Furchungscentrum dagegen in beträchtlichem Abstand von diesen (vgl. Fig. 9—10 mit Fig. 13). — Als beweisend können jedoch diese beiden Tatsachen keineswegs betrachtet werden; ein letzter Rest des Eicentrums könnte wohl dem Spermocentrum entgegengerückt sein, um mit ihm zusammen das Furchungscentrum zu bilden.

Eine solche Möglichkeit läßt sich in der Tat in *Nereis* kaum vollständig ausschließen. — Doch läßt sich mit Sicherheit behaupten, daß das Spermocentrum allein schon genügt, um die für *Nereis* charakteristische Furchungsspindel zum Vorschein zu bringen, daß es also auch ohne Beimengung der Substanz des Eicentrums die Eigenschaften schon besitzt, die für das spätere Furchungscentrum charakteristisch sind. — Dies wird aus den folgenden Erörterungen hervorgehen.

Die erste Furchungsteilung von *Nereis* unterscheidet sich inso-

weit von andern Mitosen (auch von den späteren Furchungsteilungen derselben Art), als die beiden Teilungscentren eine auffallend verschiedene Größe haben (Fig. 17). In Übereinstimmung damit ist auch die ganze Spindel schief entwickelt, und die Äquatorialplatte ist dem kleinen Centrum angenähert. — Diese ungleiche Größe der Centren ist nicht etwa durch verschiedene Entwicklungsbedingungen hervorgerufen worden; sie macht sich schon vom ersten Augenblick an geltend, indem die Teilung des von einer wohlentwickelten Strahlung umgebenen Muttercentrums eine inäquale ist (Fig. 15). Es scheint als ob von dem großen, ihre Strahlung und auch ihre Stelle beibehaltenden Muttercentrum ein winziges Tochtercentrum abgeschnürt wird, um an der Spitze einer sich verlängernden Centralspindel zur Seite geschoben zu werden.

Die Spindel verlängert sich, bis das kleine Centrum in dem zwischen beiden Vorkernen übriggebliebenen Raum die entgegengesetzte Seite der Vorkerne erreicht hat (Fig. 16). Die in Auflösung begriffene Kernmembran wird die ganze Zeit, wie auch die Körnchen im Cytoplasma, von den Centren in gewissem Abstand gehalten; es ist dabei von Interesse zu bemerken, daß dieser Abstand auf der Seite des großen Centrums weiter ist als auf der andern (Fig. 16). — Dasselbe ist auch mit den Chromosomen der Fall, wenn sie nach völliger Auflösung der Kernmembran mit den Centren in Verbindung treten, um in die Äquatorialplatte eingeordnet zu werden; die Äquatorialplatte kommt nicht wie sonst in die Mitte zwischen beiden Centren zu liegen, sondern sie ist dem kleinen Centrum genähert. Immer sieht man dabei das große Centrum eine mehr centrale Stellung in der Zelle einnehmen, das kleine aber gegen die Peripherie hin verschoben (Fig. 23—24). Die Durchschnürung des Cytoplasma geschieht wie gewöhnlich durch die Äquatorebene; die Zellteilung wird daher auch stark inäqual ausfallen müssen (Fig. 25).

Die inäquale erste Furchungsteilung der *Nereis*-Eier ist also allem Anschein nach durch eine inaequale Teilung des Furchungscentrums verursacht worden. — Dies scheint in der normalen Karyokinese ein so selten vorkommender Fall zu sein, daß man sich wohl fragen muß, ob eine solche Teilungsweise für die Art charakteristisch sei — oder nur für diese Teilung, und im letzteren Fall, wodurch diese Eigenheit des Furchungscentrums erworben ist? — Ein Gedanke, der sich a priori nicht ganz ausschließen läßt, ist der, daß die inäquale Teilung des Furchungscentrums auf seine Entstehung durch Verschmelzung zweier ungleich großer Teile, des stark redu-

zierten Eicentrums und des Spermocentrums, zurückgeführt werden könnte.

Eine Untersuchung früherer oder späterer Mitosen des *Nereis*-Eies ergibt, daß eine inäquale Teilungsweise der Centren nicht als für die Art charakteristisch betrachtet werden darf. Zwar läßt sich in der Metaphase der ersten Reifungsteilung ein beträchtlicher Unterschied der beiden Centren nachweisen (Bonnevie 1908, Textfig. D), dieser Unterschied ist aber erst sekundär erworben, indem die Centren hier von Anfang an gleichgroß waren. Auch in den folgenden Furchungsteilungen wird eine äquale Teilung der Centren konstant wieder vorgefunden[1]. Die inäquale Teilungsweise muß also als eine Eigentümlichkeit des ersten Furchungscentrums betrachtet werden, die zu der Eigenart der folgenden Mitose in bestimmter Beziehung steht.

Es kann daher als kein Zufall aufgefaßt werden, wenn bei verfrühter Teilung des Spermocentrums genau die gleiche Eigentümlichkeit auch hier zum Vorschein kommt (Fig. 8, 11). Auch hier geschieht die Teilung in Form einer Abschnürung eines kleinen Tochtercentrums — auch hier sehen wir das große Centrum, das die Wirksamkeit des Muttercentrums direkt fortzusetzen scheint, seine Stelle bewahren, während das kleine an der Spitze einer sich verlängernden Centralspindel von dieser Stelle weggeschoben wird. — Solche Frühteilungen des Spermocentrums, auf einem Stadium, wo das Eicentrum noch deutlich erkennbar ist, kommen in meinem Material zerstreut zum Vorschein.

Bei dem überhaupt so seltenen Vorkommen einer inäqualen Teilung von Cytocentren können solche Bilder als Beweis der Auffassung dienen, daß das Spermocentrum als Furchungscentrum kontinuierlich bestehen bleibt. Ob dies mit oder ohne Substanzzufuhr vom Eicentrum her geschieht, ist neben der Tatsache daß das Spermocentrum allein genügt, um der folgenden Mitose das für die erste Furchungsteilung charakteristische Gepräge zu verleihen, von geringer Bedeutung. — Von großem Interesse für die Entwicklungsmechanik ist hier die Tatsache, daß die ungleiche Größe der beiden ersten Blastomeren des *Nereis*-Eies, deren Größenverhältnisse wieder die Eigenart der weiteren Furchung begründen, in diesem Falle schon in einer Eigentümlichkeit des Spermocentrums vorbereitet, um nicht zu sagen determiniert ist.

[1] Ob eine inäquale Teilung der Cytocentren später wieder, z. B. bei der sehr ungleichen Teilung der X-Zelle (Wilson 1892), zum Vorschein kommt, habe ich nicht untersucht.

Wir waren in unsrer Beschreibung bis zum Ende der ersten Furchungsteilung gelangt.

Für unsre Kenntnis der Natur der Centralspindel wird es aber von Bedeutung sein, das Verhalten der Centren auch während der Einleitung zu den späteren Furchungsteilungen zu untersuchen. Sind die in diesen Mitosen wirksamen Spindeln auch als »primäre«, schon von der ersten Entfernung der Centren an vorhandene Centralspindeln angelegt worden, oder sind sie zwischen schon getrennten Centren erst sekundär entstanden?

In der Literatur sind Fälle genug beschrieben worden, die zugunsten der letzteren Auffassung zu sprechen scheinen, indem die beiden Centren der Prophase an verschiedenen Seiten des Furchungskerns, also weit voneinander getrennt, zuerst zum Vorschein kommen; erst nach der Auflösung der Kernmembran scheinen beide Centren miteinander in Verbindung zu treten.

Auch in den Furchungsteilungen von *Nereis* glaubt man zuerst eine ebensolche Entstehung der achromatischen Figur erschließen zu müssen. — Wenn in der Prophase die beiden Sphären zuerst zutage treten, sind sie schon weit voneinander getrennt und der Kernmembran dicht anliegend. Eine Spindelbildung scheint bei dieser Lage erst nach der Auflösung der Kernmembran möglich zu sein. — Geht man aber in dieser Untersuchung weiter zurück, von der betreffenden Prophase in das vorhergehende Ruhestadium und weiter bis in die Telophase der vorhergehenden Teilung hinein, so wird man auch hier finden, daß die erste Entwicklung der achromatischen Figur in den Furchungsteilungen genau in derselben Weise verläuft wie zwischen beiden Reifungsteilungen. Nur ist zwischen die Anfangs- und Endstadien dieser Entwicklung eine Ruhepause eingeschoben, während welcher die vorher stark entwickelten Strahlungen beinahe oder ganz verschwinden, um später an derselben Stelle wieder zum Vorschein zu kommen.

Fig. 19—22 stellen eine Reihe Bilder aus der Telophase der ersten Reifungsteilung dar, die mit Bezug auf die achromatischen Strukturen zur selben Zeit auch die Prophase der zunächst folgenden Teilung repräsentieren. — In Fig. 19 sieht man innerhalb der alten Polstrahlung die Teilung des Cytocentrums eben vor sich gegangen, während die Chromosomen ihre zu der Kernbildung führenden Veränderungen durchlaufen. Die weitere Entwicklung wird in Fig. 20—21 demonstriert. Wir sehen hier die neuen Strahlensysteme innerhalb des alten sich entwickeln, und zwar in der so wohlbekannten Weise

mit einer Pohlstrahlung auf jedes Tochtercentrum gerichtet und mit einer sich verlängernden Centralspindel als eine kontinuierliche Brücke zwischen beiden Centren. — Die jungen Strahlungen haben auf dem in Fig. 21 abgebildeten Stadium, d. h. zu einer Zeit, wenn die Durchschnürung der Eizelle etwa zur Hälfte vorgeschritten ist, ihren Höhepunkt erreicht. Die beiden Centren liegen hier von einer breit-ovalen, hellen Zone umgeben, innerhalb welcher die auf die Centren gerichteten Strahlen kaum sichtbar sind. Die Mikrosomen des Cytoplasma sind also auf einem relativ weiten Abstand von den Centren entfernt worden.

Auf einem folgenden Stadium (Fig. 22) scheint die Wirksamkeit der Centren wieder an Intensität verloren zu haben. Sie sind wohl selbst noch (nach Fixation mit Pikrin-Essigsäure) als scharf markierte Punkte sichtbar; ein Einfluß auf ihre Umgebungen ist aber kaum mehr nachweisbar. Die früher in Abstand gehaltenen Körnchen sind wieder dicht an die Centren herangerückt; die beiden Polstrahlungen sowie die jetzt lang ausgezogene Centralspindel scheinen ihre Spannung vollständig verloren zu haben. — Mit diesem Rückgange der Strahlungserscheinungen ist eine Ruhepause der beiden Centren eingeleitet. Auf wenig späteren Stadien läßt sich keine Strahlung mehr nachweisen; auch die Centren, die der oft stark und unregelmäßig gewölbten Kernmembran dicht anliegen, sind dann nicht mehr leicht in die Augen fallend. — Während dieser Ruhepause scheinen die Centren jedoch ihren Platz annähernd zu behalten; sie kommen nämlich vor der Auflösung der Kernmembran an entsprechenden Stellen wieder zum Vorschein, wie diejenigen, wo wir sie jetzt verlassen haben. — Daß die Centren auch am Ende ihrer Ruhepause mittels einer Centralspindel miteinander in Verbindung stehen, geht daraus hervor, daß die Kernmembran an der zwischen beiden Centren liegenden Strecke sehr oft abgeflacht oder sogar eingebogen erscheint, als ob sie durch ein ihr außen anliegendes Band verhindert würde, sich hier kugelig zu wölben.

In den Furchungsteilungen von *Nereis* sehen wir also eine Centralspindel schon von einem Augenblick an vorhanden, wo beide Centren einander ganz nahe gelegen waren: die gegenseitige Entfernung der Centren geschieht auch hier unter Mitwirkung der sich verlängernden Centralspindel.

Als die hauptsächlichsten Resultate meiner im obigen beschriebenen Befunde möchte ich hier folgendes zusammenstellen:

1. Spindelbildungen, die unter sich genau gleich aussehen, können sowohl verschiedenen Ursprungs sein als auch verschiedenen Bewegungserscheinungen im Cytoplasma Ausdruck geben. — Die im *Nereis*-Ei zur Zeit der zweiten Reifungsteilung zwischen dem inneren Eicentrum und dem Spermocentrum existierende Spindel, die durch Annäherung zweier getrennter Strahlungssysteme gebildet worden ist, wird im Gegensatz zu einer »primären«, sich verlängernden Centralspindel unter Annäherung der Centren immer mehr verkürzt.

2. Die Entfernung der Tochtercentren voneinander geschieht während der Furchung — wie auch zwischen beiden Reifungsteilungen — durch Vermittlung einer vom ersten Beginn der Centrenwirksamkeit an sichtbaren und stetig sich verlängernden Centralspindel. Die Entwicklung der achromatischen Strukturen wird aber in den Furchungsteilungen durch eine Ruhepause unterbrochen, und die Anfangstadien derselben müssen so früh wie in der Telophase der vorhergehenden Teilung gesucht werden.

3. Das Spermocentrum bleibt als Furchungscentrum bestehen. Ob auch das Eicentrum an der Bildung des letzteren beteiligt ist, läßt sich mit Sicherheit nicht entscheiden: sicher ist es aber, daß das Furchungscentrum seine inäquale Teilungsweise vom Spermocentrum in Erbe genommen hat.

4. Die ungleiche Größe der beiden ersten Blastomeren von *Nereis*, die als eine direkte Folge der inäqualen Teilung des Furchungscentrums aufgefaßt werden muß, scheint somit schon in einer Eigentümlichkeit des Spermocentrums vorbereitet zu sein.

Durch die beiden ersten Punkte meiner hier zusammengestellten Resultate müssen eine Reihe Fälle fehlender Übereinstimmung zwischen der in dieser Arbeit verfochtenen Auffassung der Centralspindel und den Beobachtungen andrer Forscher an Bedeutung verlieren. Erstens wird gezeigt, daß »Spindel« und »Spindel« unter Umständen trotz ihres völlig gleichen Aussehens zwei verschiedene Sachen bedeuten können, — daß also für eine Beantwortung der Frage nach der Bedeutung der Centralspindel nur solche Angaben in Betracht gezogen werden dürfen, die mit von ihrem ersten Ursprung an bekannten Größen operieren. — Zweitens geht es aber auch hervor, daß eine Untersuchung der Prophase einer indirekten Teilung nicht immer genügt, um den ersten Ursprung ihrer achromatischen Strukturen sicher zu erkennen.

Die Bedeutung der in den beiden letzten Punkten besprochenen inäqualen Mitose für die Zellteilungsmechanik wird weiter unten besprochen werden.

Diskussion.

Unsre Auffassung der Zellteilungsmechanik ist auf die Voraussetzung basiert, daß die Centren einer karyokinetischen Figur unter sich nicht wesentlich verschieden sind, sondern daß beide (oder sämtliche) Centren einer Zelle in gleicher Weise das umgebende Cytoplasma beeinflussen. — Wenn ich, trotz der auch in dem letzten Dezennium gelieferten Verteidigung der Theorien »dualer Kräfte« der Centren, diese Voraussetzung immer noch als geltend betrachte, so geschieht dies aus Gründen, die jetzt erörtert werden sollen.

Reinke (1900) sieht in einer von ihm im Salamander-Peritoneum beobachteten inäqualen Mitose »einen Beleg, der — — außerordentlich für die trajektorielle Natur der Zellstrahlungen spricht«. Die Form der Spindel, die Form und Lage der Äquatorialplatte dieser inäqualen Mitose stimmen, nach Reinke, so wohl mit den für Kraftliniendiagramme ungleich starker Pole mit entgegengesetzten Vorzeichen geltenden Gesetzen überein, daß »eine trajektorielle Natur der Strahlungen (deshalb) anerkannt werden (muß)«.

Auf Grundlage meiner eigenen Erfahrungen über die inäqualen Mitosen von *Nereis* muß ich mich zu Reinkes Beweisführung ablehnend stellen.

Das Charakteristische eines Kraftliniendiagrammes mit ungleich starken Polen ist, nach Reinke, in den folgenden drei Punkten zu sehen: (Textfig. A.)

(S. 413—414) »1. Die Strahlung ist am stärkeren Centrum (*a*) viel bedeutender als am schwächeren Centrum.

2. Die Spindel erscheint am stärkeren Centrum mehr verjüngt, am schwächeren Centrum mehr verbreitert, sie ist also inäqual-bipolar symmetrisch gebaut.

3. Die Gleichgewichtsfläche (symmetrische oder neutrale Fläche *n n*), in welcher sich die Linien der Spindelhälften vereinigen, ist dem schwächeren Centrum zu konkav gekrümmt. Sie bildet eine Kugelschale, deren Konkavität dem schwächeren Centrum zugewandt ist.«

Diese Bedingungen werden, nach Reinke, von der ungleichpoligen Mitose der Salamander-Larve (Textfig. B) alle erfüllt. »Die Polstrahlungen sind ganz ungleich entwickelt« — »die zur größeren Strahlung gehörige Spindelhälfte ist länger ausgezogen und läuft spitzer zu« als die andre, und der »Ring der Chromosomen ist inäqual gestellt, indem er von den Centralkörperchen mit der größeren Strahlung abgerückt erscheint. Dabei sind die Schleifen der Chromosomen so viel stärker gegen das Centralkörperchen *b* gebogen, daß eine durch den ganzen Chromosomenkomplex hindurchgelegte

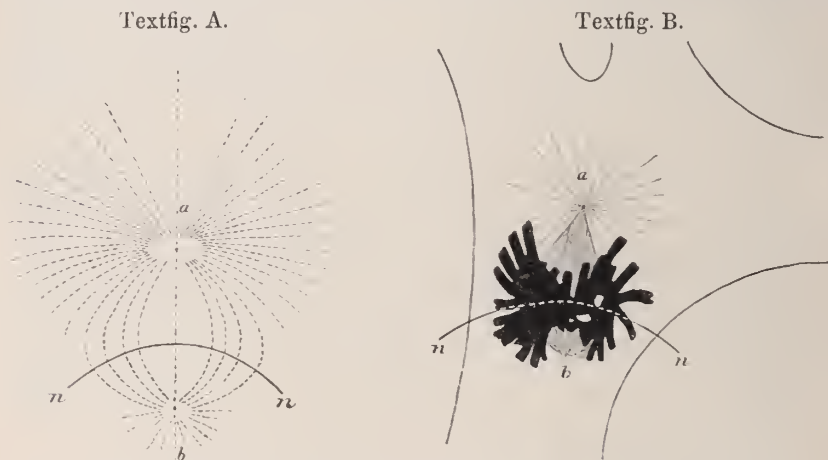


Fig. A. Kraftliniendiagramm ungleich starker Pole (5 : 3) mit entgegengesetzten Vorzeichen. (Nach Reinke.)
Fig. B. Inäquale Mitose aus dem Bindegewebe des Salamanders. (Nach Reinke.)

Symmetriefläche nicht wie sonst eine Ebene, sondern eine gegen *b* konkav gekrümmte Kugelfläche darstellt.«

Diese von Reinke für seine Schlüsse zugrunde gelegte Mitose scheint mir aber für eine Entscheidung der Frage nach der Natur der mitotischen Kräfte sehr wenig geeignet. Die Chromosomen sind im Verhältnis zur achromatischen Figur so groß, daß der Verlauf der Spindelfasern auf einer beträchtlichen Strecke nicht verfolgbar ist. Auch liegen die Chromosomen in der Äquatorialplatte einander so dicht genähert, daß ihre Befestigungsstellen auf der Spindel nicht gesehen werden können. Wenn daher Reinke in seiner Abbildung (Textfig. B dieser Abhandlung) die Symmetriefläche (*n n*) als eine gebogene Linie eingezeichnet hat, so scheint mir dies nicht von der Teilungsfigur selbst geboten zu sein. Die Linie könnte ebensogut nach der andern Seite gebogen oder auch ganz gerade verlaufen.

Endlich scheint, nach Reinke, die betreffende Mitose auch keine normale zu sein. Die Chromosomenteilung soll nämlich eine inäquale sein, und zwar so, daß die Chromosomen ohne Längsspaltung und in einer der verschiedenen Stärke beider Pole entsprechenden Anzahl verteilt werden[1]).

Die nicht als Abnormitäten, sondern ganz konstant auftretenden inäqualen Mitosen von *Nereis* bilden für eine Beurteilung dieser Fragen ein weit günstigeres Material. — Die Chromosomen sind hier im Verhältnis zu der achromatischen Figur so klein, daß sie den gesamten Verlauf der Spindelfasern deutlich sichtbar lassen; ihre Befestigung auf die letzteren ist so scharf markiert, daß auch in dieser Beziehung das Bild an Klarheit nichts zu wünschen übrig läßt (Textfig. C).

Diese auch mit bezug auf die Chromosomenteilung völlig normal verlaufenden Mitosen lehren, daß die zwei ersten Bedingungen für eine Übereinstimmung mit den Kraftliniendiagrammen auch hier erfüllt werden, indem die Polstrahlungen ungleich groß und die beiden Spindelhälften dazu noch ungleich geformt sind; die dem großen Centrum angehörige Hälfte der Spindel ist länger und auch spitzer ausgezogen als diejenige des kleinen Centrums.

Die dritte Bedingung aber, daß die Gleichgewichtsfläche eine mit ihrer Konkavität dem schwächeren Centrum zugewandte Kugelschale bilden soll, wird in den inäqualen Mitosen von *Nereis* nicht erfüllt. — Die Äquatorialplatten der inäqualen ersten Furchungsteilung unterscheiden sich in diesem Punkte nicht von denjenigen der später folgenden äqualen Mitosen; sie bilden annähernd plane Flächen, innerhalb welcher die Chromosomen gleichmäßig verteilt sind.

Ein Vergleich der ungleichpoligen Mitosen mit den entsprechenden Kraftliniendiagrammen ergibt weiter, daß auch der Verlauf der Linien in beiden Fällen verschieden ist. Die »Spindeln« der Kraftliniendiagramme haben ihre größte Breite in einer Ebene, die zwi-

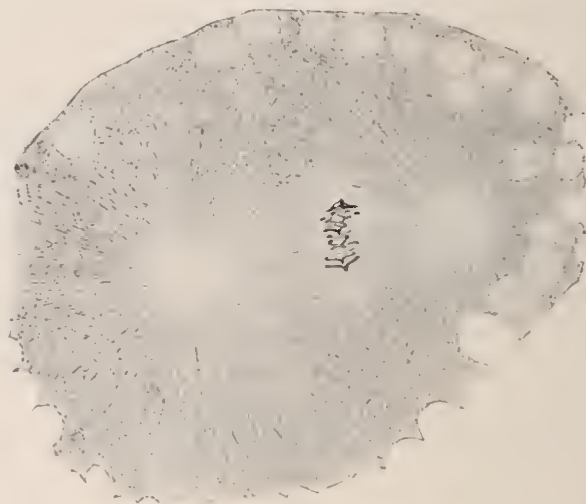
---

[1]) Wenn Reinke diese Abnormität seiner Mitose als einen weiteren Beleg ihres trajektoriellen Charakters betrachtet, kann er die logischen Konsequenzen seiner eigenen Auseinandersetzungen nicht gezogen haben. Die Gleichgewichtsfläche eines Kraftliniendiagrammes umfaßt diejenigen Punkte, in denen die Wirkung beider Pole gleich stark ist; bei einer ungleichen Stärke der Pole muß sie daher auch selbstverständlich dem schwächeren Pol genähert sein. Die in einer solchen Fläche befestigten Chromosomen haben keinen Grund, eine inäquale Teilung zu erleiden; wenn sie trotzdem in der von Reinke beschriebenen Weise geteilt werden, würde dies nicht zugunsten seiner Annahme einer trajektoriellen Natur der Strahlungen, sondern vielmehr gegen dieselbe sprechen.

schen der Gleichgewichtsfläche und dem stärkeren Pol gelegen ist, so daß die Linien hier in einem nach außen konvexen Bogen verlaufen (Textfig. A). — In der ungleichpoligen Mitose dagegen wie auch in der gleichpoligen ist die größte Breite der Spindel genau in der Ebene der Äquatorialplatte zu suchen; die Spindelfasern scheinen dabei zwischen Centren und Äquatorialplatte ganz gestreckt zu verlaufen.

Das Bild der ungleichpoligen Mitose stimmt, nach dem obigen, mit den Kraftliniendiagrammen in wesentlichen Punkten nicht über-

Textfig. C.



Die erste Furchungsteilung von *Nereis limbata.* (Bonnevie 1908)

ein. — Dazu kommt noch, daß die anscheinende Übereinstimmung in andern Punkten sich auch ohne die Annahme entgegengesetzt wirkender Kraftcentren erklären läßt.

Die Centralspindel ist, nach der in dieser Arbeit verfochtenen Auffassung, als eine durch zentrifugale Bewegung des um beide Centren angesammelten Hyaloplasmas entstandene Verdichtungszone anzusehen. — Es wird dann auch einleuchtend sein, daß ein stärkeres Centrum, das mittels einer mächtig entwickelten Polstrahlung eine größere Menge Hyaloplasma an sich heranzieht, auch an der Bildung der Centralspindel einen größeren Anteil nehmen muß als das kleinere Centrum, damit die zentrifugale Strömung in die Centralspindel hinein zu der zentripetalen der Polstrahlung auf beiden Seiten in dem rich-

tigen Verhältnis stehen soll. Die dem großen Centrum angehörige Hälfte der Centralspindel wird daher auch rascher heranwachsen müssen als die andre, d. h. die Grenzfläche zwischen den Wirkungsgebieten beider Centren wird dem kleineren Centrum genähert sein.

Die charakteristische Form der ungleichpoligen Spindel läßt sich weiter auch als eine notwendige Folge dieses Verhältnisses erklären. — Die beiden Spindelhälften stoßen in dieser Grenzfläche zusammen; sie bilden also zwei entgegengesetzt gerichtete Kegel mit gemeinsamer Grundfläche. Es bedarf dann auch die Tatsache keiner weiteren Erklärung, daß der dem großen Centrum angehörige Kegel, der eine größere Höhe hat, auch »länger ausgezogen« sein muß, »während die zur schwächeren Strahlung gehörige Spindelhälfte breiter und kürzer gestaltet ist« (Reinke).

Mit bezug auf die Chromosomen können wir nur konstatieren, daß sie sich in der ungleichpoligen Mitose genau ebenso verhalten wie in der gleichpoligen. Ihre Anordnung auf der Grenzfläche zwischen den Wirkungsgebieten beider Centren, ihre Teilung, die Trennung ihrer Längshälften — alles geschieht in der von der gleichpoligen Mitose so wohlbekannten Weise. Über die Weise, in welcher die ungleiche Stärke der Centren sich in dem Verhalten der Zugfasern geltend macht, läßt sich bei unsrer Unbekanntschaft der Natur und Bildungsweise dieser Fasern nichts aussagen.

Die obigen Erörterungen sind auf der Voraussetzung basiert, daß die beiden Centren der ungleichpoligen Mitose vom Augenblick ihrer Entstehung an auch wirklich ungleich stark sind, daß die Mitose also eine »heterodynamische« im Sinne Zieglers (1898) ist. — Die große Ähnlichkeit der Anfangsstadien dieser Mitose mit den von Baltzer (1908) beschriebenen, aber in andrer Weise gedeuteten Frühteilungen der *Echinus*-Centren macht eine Rechtfertigung dieser Voraussetzung wünschenswert.

Baltzer ist geneigt, seine Bilder ungleich großer Spindelpole nicht auf eine inäquale Teilung des Muttercentrums zurückzuführen, sondern vielmehr darauf, daß das eine die Mutterstrahlung übernehmende Tochtercentrum auf Grund dieser günstigeren Verhältnisse in seiner Entwicklung einen Vorsprung gewonnen hat. — Die weitere Entwicklung der Baltzerschen Figuren ist nicht verfolgt worden. Damit aber aus solchen Anfangsstadien normale Mitosen resultieren sollten, müßte dieser Unterschied in dem Entwicklungsgrad beider

Centren schon während der Prophase wieder ausgeglichen werden. Für eine gesetzmäßige Verteilung der Tochterchromosomen wird es nämlich eine wesentliche Bedingung sein, daß beide Cytocentren gleichzeitig auf die Höhe ihrer Wirksamkeit zu stehen kommen; sonst würden die Spannungsverhältnisse der Teilungsfigur so stark verändert werden, daß ein normaler Ablauf der Mitose als ausgeschlossen betrachtet werden müßte.

Auch in *Nereis* findet die Teilung des Furchungscentrums zu einer Zeit statt, wenn ihre Strahlung noch in voller Kraft besteht; auch hier wird diese Strahlung von einem Tochtercentrum direkt übernommen, während das andre seine Polstrahlung erst neu bilden muß. — Eine Ausgleichung des Unterschiedes beider Centren findet aber nicht statt. Vom ersten Beginn bis zum Ende der Mitose sieht man die Ungleichheit der Centren bewahrt; die ungleiche Größe der Polstrahlungen, die schief entwickelte Spindel und noch mehr die schief gestellte, aber völlig normal entwickelte Äquatorialplatte deuten dabei sämtlich darauf hin, daß die Centren unter sich wohl ungleich stark sind, daß aber der ganze karyokinetische Apparat darauf eingerichtet ist, trotz dieser Ungleichheit der Centren, die eine inäquale Cytoplasmateilung mit sich führt, doch eine äquale Teilung der Chromosomen ausführen zu können.

Die Ungleichheit der Größe beider Centren kann also in *Nereis* nicht auf einem zeitlichen Unterschied ihrer Entwicklung beruhen; das kleine Centrum erreicht zur selben Zeit den Höhepunkt seiner Aktivität wie das große. Die Teilung des Furchungscentrums muß hier als eine wirklich inäquale betrachtet werden, die zu einer heterodynamischen Mitose führt[1]).

Eine Betrachtung dieser heterodynamischen Mitose in *Nereis* führt, wie schon oben gezeigt, zu einem von Reinkes sehr verschiedenen Resultat, daß nämlich zwischen den mitotischen Strahlungsbildern und den Kraftliniendiagrammen zwar eine oberflächliche Ähnlichkeit besteht, daß diese Ähnlichkeit aber auf wesentlichen Punkten versagt und ihr daher auch für die Zellteilungsmechanik keine Bedeutung beigelegt werden kann.

Den an und für sich sehr interessanten Experimenten und Er-

---

[1]) Eine solche ungleiche Größe zweier an einer Mitose beteiligten Centren ist von Goldschmidt (1905) mit dem Worte »Heterocentrie« bezeichnet worden.

örterungen GALLARDOS[1]) (1896—1909) und HARTOGS (1905—'08) gegenüber möchte ich nur noch an einen schon früher veröffentlichten Befund (BONNEVIE 1906) erinnern, der deutlicher als alle Argumente die Unhaltbarkeit dieser Versuche, die Cytocentren als entgegengesetzt wirkende Kraftpole aufzufassen, beweist.

In den Polocyten erster Ordnung von *Enteroxenos* habe ich bei einem Individuum zahlreiche Bilder abortiver Teilungsversuche gefunden, die für die Zellteilungsmechanik von Interesse waren (Textfig. D_{1-5}). — Die Teilung wird anscheinend ganz normal eingeleitet (1); man sieht die Cytocentren »als hügelartige Vorsprünge an der Oberfläche der Polocyte hervorragen und zwischen denselben eine schwach gebogene, sehr zarte Centralspindel«. — »Außer den Centralspindelfasern sieht man hier auch zahlreiche Fasern, die zwischen den Centrosomen und Chromosomen entstanden sind.« — Nach dieser Einleitung der Mitose folgt aber in den meisten Fällen eine abnorme weitere Entwicklung der Teilungsbilder.

»Das Charakteristische dieser abnormen Teilungsfiguren besteht darin, daß die Centralspindel abnorm mächtig entwickelt ist und die Chromosomen ihre normale Verbindung mit den Centrosomen entbehren. Die Centralspindel wächst in der kleinen Polocyte zu einer Länge an, die diejenige der zweiten Reifungsteilung im Ei erheblich

---

1) In den späteren Arbeiten GALLARDOS, und besonders in einer nach der Einsendung meines Manuskriptes erschienenen Abhandlung (GALLARDO 1909), werden die beiden Centren einer Karyokinese nicht mehr als entgegengesetzt wirkende Kraftpole betrachtet, sondern sie sollen beide als positiv elektrische Körperchen die negativ elektrischen Chromosomen anziehen. — Seine in dieser Weise modifizierte Auffassung der Zellteilung als »un phénomène bipolaire de caractère électrocolloidal« möchte ich auf Grundlage eigener Erfahrungen für recht wahrscheinlich halten, doch nur unter der ausdrücklichen Voraussetzung, daß die Annahme einer positiv-elektrischen Ladung der beiden Sphären auch für die sie verbindende Centralspindel Geltung haben möchte.

Eine Anziehung zwischen Centralspindel auf der einen Seite und Kern oder Chromosomen auf der andern ist schon öfters nachgewiesen worden (BONNEVIE 1906, S. 335), und das ganze Verhalten der Chromosomen vor und nach ihrer Befestigung an die Spindel kann in gewissen Objekten (z. B. *Allium*, *Nereis*: BONNEVIE 1907—08) an elektrische Phänomene auffallend erinnern.

Wenn aber auch zwischen Chromosomen und achromatischen Strukturen elektrisch wirksame Kräfte angenommen werden könnten, so wäre damit über die Natur und Entstehung der Spindel und über die zwischen beiden Centren wirksamen Kräfte noch nichts ausgesagt. Das Wachstum der Centralspindel mit der daraus folgenden Entfernung beider Centren auseinander, würde ja nur eine Vergrößerung des einen, positiv elektrischen, Pols bedeuten, während diese Vergrößerung selbst von ganz andern Kräften abhängig sein könnte.

übertrifft. Dabei wird die ganze Spindel in der Polocyte entweder wurmförmig aufgerollt (3, 4) oder ihre einzelnen Fasern weichen auseinander (5). — Die Centrosomen werden während dieser Umbildungen der Polocyte immer an beiden Enden der Centralspindel gefunden; aber dabei können sie unter sich jede beliebige Stellung einnehmen, weit voneinander entfernt (2, 5) oder einander dicht genähert sein (3, 4).

Die Chromosomen sind gruppenweise oder vereinzelt der Centralspindel angelagert oder können auch ohne jede Verbindung mit der

Textfig. D.



Abortive Teilungsversuche in den Polocyten von *Enteroxenos östergreni* (Bonnevie 1906).

Spindel in einem zufällig strahlenfrei gelassenen Raum angehäuft liegen.« (Bonnevie 1906, S. 296).

Wenn eine achromatische Spindel als Ausdruck der zwischen entgegengesetzten Polen existierenden Kraftlinien anzusehen wäre, dann würde der Verlauf ihrer Fasern von der gegenseitigen Stellung der Centren bestimmt werden müssen. Selbst wenn es in Betracht genommen wird, daß hier nicht von mathematischen Linien, sondern von materiellen Faserzügen die Rede ist, müßten die letzteren doch im großen und ganzen die für die Kraftlinien jedes speziellen Falles charakteristische Länge und Krümmung haben. — In der Tat sieht man aber in den Polocyten von *Enteroxenos*, wo die Zugfasern aus dem Spiele geblieben sind, die Centralspindel unter allerlei Krümmungen sich immer weiter verlängern, während die von den Centren

dabei eingenommene Stellung vollständig gleichgültig scheint; sie werden als die beiden Endpunkte der lang ausgezogenen, wurstförmigen Centralspindel anscheinend ganz passiv hin und her geschoben, in einer Weise, die wohl jede weitere Diskussion einer »dualen« Kraftwirkung der Centren überflüssig machen könnte.

Dieselben Bilder lassen sich aber mit der in dieser Arbeit verfochtenen Anschauung des Verhältnisses zwischen Centralspindel und Zugfasern wohl in Einklang bringen. — Die Zugfasern einer normalen Mitose leisten, indem sie Centren und Chromosomen mehr oder weniger fest verbinden, gegen die Verlängerung der Centralspindel einen Widerstand, der nach dem Aufhören der Centrenwirksamkeit auch an der Umkehr der Strömungsrichtung in Centralspindel und Polstrahlung mitbeteiligt ist. — Eben die Zugfasern sind aber in den *Enteroxenos*-Polocyten nicht normal entwickelt, was aus der regellosen Lage der Chromosomen zur Genüge hervorgeht. Die Centralspindel kann sich also ohne Widerstand verlängern, so lange noch durch die Polstrahlung Material herbeigeführt wird; nur weil die Zelle so kleine Dimensionen hat, ist sie genötigt, während dieser Verlängerung verschiedenartige Krümmungen zu beschreiben. Von dem Widerstand der Zugfasern ist aber auch die Spannung der Centralspindel abhängig, und die Centren werden hier ohne beträchtliche Störung der Gleichgewichtsverhältnisse der Zelle im Cytoplasma verschoben; nach dem Aufhören ihrer Wirksamkeit wird daher auch ohne Umkehr der Strömungsrichtung das Gleichgewicht im Cytoplasma bald wiederhergestellt sein.

Von diesem Gesichtspunkte aus läßt sich auch an die so vielfach diskutierten Beobachtungen von Th. Boveri (1897), H. E. Ziegler (1897) und E. B. Wilson (1901) über Zellteilung ohne Beteiligung des Kerns etwas näher herantreten. — Obwohl die Resultate der drei erwähnten Forscher in gewissen Punkten voneinander verschieden sind, stimmen sie doch alle darin überein, daß sie die große Bedeutung, wenn auch nicht die Notwendigkeit des Vorhandenseins von Chromatin zwischen den Teilungscentren demonstrieren.

Aus meiner eben diskutierten Beobachtung an den Polocyten von *Enteroxenos* scheint es aber hervorzugehen, daß es nicht — oder nicht nur — das Vorhandensein von Chromatin ist, das einen normalen Verlauf der Cytoplasmateilung bedingt, sondern daß auch die für die betreffende Zellart charakteristische Verbindung zwischen

Chromosomen und Centren von Bedeutung ist. — Die Centralspindel wird ja nämlich ohne den regulierenden Einfluß der Zugfasern eine Zellteilung nicht befördern, sondern geradezu verhindern.

In dieser Verbindung möchte ich auf eine früher nur wenig beachtete Tatsache aufmerksam machen, die von Ziegler (1897) erwähnt worden ist, diejenige nämlich, daß in den von ihm beobachteten kernlosen Zellen (S. 290), »so weit die Teilungen genau verfolgt wurden, es nicht die senkrecht zu den Spindeln gehenden Einschnürungen, sondern die den Spindeln parallel gehenden Einschnürungen waren, welche eine völlige Durchtrennung des Zellkörpers herbeiführten«.

Schon bei der ersten Spindelbildung trat, nach Ziegler, in der kernlosen Zelle zwischen beiden Centren eine schwache Einschnürung ein, die aber wieder rückgebildet wurde. Bei dem nächsten Teilungsschritt, wenn in der Zelle vier Centren vorhanden waren, wurden wieder um alle Centren herum Einschnürungen eingeleitet, die aber nur dort effektuiert wurden, wo die Centren durch keine Spindeln verbunden waren. Dasselbe wiederholte sich später jedesmal, so lange die Zellteilung genau verfolgt werden konnte.

Ziegler knüpft selbst an diese Bevorzugung der spindellosen Ebenen keine Bemerkungen an; ich sehe aber darin einen neuen Beleg für die oben ausgesprochene Auffassung, daß die Centralspindel an und für sich gegen die Zellteilung einen Widerstand leistet, indem sie eine Zone größerer Dichtigkeit als das zwischen zwei getrennten Centren liegende Cytoplasma repräsentiert. Erst unter der Mitwirkung der Zugfasern kann die Centralspindel ihre Rolle als das für eine normal verlaufende Kernteilung unentbehrliche Mittel um ein gesetzmäßiges Zusammenwirken beider Centren zu ermöglichen, glücklich zu Ende führen.

Diese schon von Ziegler erwiesene Möglichkeit einer Zelldurchschnürung zwischen getrennten Centren ist später von Teichmann (1903) eingehend diskutiert worden. Seine Erwägungen betreffen jedoch wesentlich nur die in den Polstrahlungen wirksamen Kräfte und haben somit für unsre Frage nach der Rolle der Centralspindel nur eine indirekte Bedeutung. Unter den vielen zwischen freien oder durch Kernspindeln verbundenen Sphären eintretenden Cytoplasmateilungen, die von Teichmann beschrieben worden sind, finden wir jedoch auch einen Fall, der für uns ein weiter gehendes Interesse haben könnte. Es ist dies die in seiner Fig. 13 abgebildete Durchschnürung des Cytoplasmas zwischen zwei durch Teilung eines Muttercentrums

entstandenen Sphären. Wenn die beiden Tochtercentren hier, wie bei der normalen Teilung, durch eine Centralspindel unter sich verbunden wären, dann würde in diesem Falle gegen unsre Auffassung ein Widerspruch zu ersehen sein, indem die Cytoplasmateilung eine zugfaserlose Centralspindel quer durchschnitten haben müßte. — Sowohl die Abbildungen wie auch die Beschreibung TEICHMANNS deuten aber darauf hin, daß hier aus irgend einem Grunde eine Centralspindel nicht entwickelt worden ist. Die betreffenden Sphären scheinen vom ersten Augenblick an voneinander ganz unabhängig zu sein, und sie können daher auch auf das umgebende Cytoplasma eine ähnliche Wirkung üben wie unter sich freie Sphären.

Ähnliche Abnormitäten sind auch von M. BOVERI (1903) in ihrer sehr interessanten Mitteilung über »Mitosen bei einseitiger Chromosomenbindung« beschrieben und eingehend erörtert worden. Da zwischen meinen Beobachtungen und denjenigen von M. BOVERI beim ersten Anblick ein Gegensatz zu bestehen scheint, werde ich im folgenden versuchen, unsre Resultate von einem und demselben Gesichtspunkte aus zu betrachten, wobei es sich zeigen wird, daß sie in Wirklichkeit sich nicht widersprechen, sondern im Gegenteil sehr wohl komplettieren.

Ein Blick auf die Abbildungen der erwähnten Arbeit genügt, um in sämtlichen von M. BOVERI beschriebenen Fällen das Fehlen einer Centralspindel zu konstatieren. Dies ist auch von der Verfasserin, und zwar in den folgenden Worten, betont worden: (S. 431) »Der Hauptunterschied, auf dem die ganze Abnormität beruht — — besteht darin, daß die beiden Sphären in dem abnormen Fall von ihrer Entstehung an viel weiter voneinander entfernt sind, und daß damit jede Beziehung zwischen ihnen, sei es durch verbindende Fasern, sei es durch den Kern oder seine Chromosomen, fehlt.«

Diese Worte enthalten aber auch den anscheinenden Gegensatz, von dem ich schon oben gesprochen habe. — Von mir wurde die gegenseitige Entfernung der Cytocentren als Folge einer Verlängerung der Centralspindel aufgefaßt; hier finden wir auf der andern Seite als Resultat der sorgfältigen Beobachtungen von M. BOVERI, daß in ihrem Objekt eben das Fehlen einer Centralspindel mit einer ungewöhnlich großen Entfernung der Centren voneinander zusammen vorkommt. Die Verfasserin scheint dann auch im Rechte zu sein, wenn sie aus ihren Beobachtungen den Schluß zieht (S. 435), »daß die Spindel eine Koppelung der Sphären bewirkt, welche dieselben am

Auseinanderweichen verhindert«, — sowie auch, wenn sie daher das Verhalten zwischen Sphären und Kern in folgender Weise zu erklären sucht. Sie sieht darin (S. 424) »zwei einander widerstreitende Tendenzen: Die Centren suchen sich bis auf einen gewissen Abstand voneinander zu entfernen, — — —, den wir ihre Gleichgewichtslage nennen wollen. Der Kern muß diesem Bestreben folgen, er kommt ihm durch seine Vergrößerung und vor allem durch Streckung bis zu einem gewissen Grade nach. Von da an aber hält er nun seinerseits die Sphären fest und verhindert sie, ihre Gleichgewichtslage wirklich zu erreichen.«

Bei einer Beurteilung des in unsern Auffassungen zutage tretenden Gegensatzes muß in Betracht genommen werden, daß M. Boveri die ganze Zeit von »Kernspindeln« (Centralspindel + Zugfasern) spricht, während meine Schlüsse sich auf die Centralspindel allein beziehen. Daß die Zugfasern auf die Centren eine koppelnde Wirkung üben, ist auch von mir betont worden. — Der Gegensatz ist aber damit nicht beseitigt; die von M. Boveri nachgewiesene rasche und weite Entfernung der Centren ohne Mitwirkung irgend welcher Spindelbestandteile bleibt immer noch als eine Tatsache bestehen, neben welcher meine Auffassung der Centralspindel sehr fraglich erscheinen könnte. Auch ist von Baltzer (1908) eine mehrpolige Mitose demonstriert worden, die ihm den Schluß erlaubt, (S. 311) »daß auch eine achrome Spindel den Abstand zweier Sphären beeinflussen kann, dadurch, daß sie zwischen denselben eine Art Koppelung herstellt, welche das Auseinanderweichen hemmt«.

Wenn ich trotz alledem meine Auffassung der Rolle der Centralspindel aufrechthalten muß, so hängt dies damit zusammen, daß dieser Widerspruch, meiner Meinung nach, nur ein scheinbarer ist, indem die Lagebeziehungen unter sich freier Sphären oder Sphärenkomplexe nicht ohne weiteres mit der gegenseitigen Stellung der zu einem Spindelkomplex gehörigen Sphären vergleichbar sind.

Wie es von Baltzer (1908) gezeigt worden ist, läßt sich in der gegenseitigen Stellung der in einer Zelle befindlichen Sphären immer eine durchgehende Gesetzmäßigkeit nachweisen. Eine Anzahl gleich großer Sphären werden, wenn sie durch Spindeln verbunden sind, in annähernd gleich großen Abständen von dem Centrum der karyokinetischen Ebene eingestellt. Wenn aber (S. 311) »die Sphären ungleich groß sind, nimmt die größere Sphäre eine centrale Stellung

ein, während die kleinere gegen die Peripherie verschoben ist«. — (S. 312) »Diejenigen Sphären, die keine Verbindung zwischen sich haben, stehen in größerem Abstand voneinander als die verbundenen.« Aus einer Reihe sechspoliger Mitosen wird dann endlich auch der Schluß gezogen, (S. 313) »daß die Konstellation der Sphären auch dann einer Gesetzmäßigkeit unterliegt, wenn zwischen denselben keine Spindelbildungen bestehen«.

Diese Gesetzmäßigkeit der Sphäreneinstellung ist aber überall eine solche, wie sie in die Gleichgewichtsbedingungen des ganzen Zellkörpers als Glied hineingehört. — Das Studium der Bewegungserscheinungen einer sich teilenden Zelle lehrt bald, daß Sphären und Spindeln eine andre Konsistenz haben als das umgebende Cytoplasma — daß sie sozusagen als temporäre Ausscheidungsprodukte aufgefaßt werden können, die wieder je nach ihrer verschiedenen Größe einen gewissen Bezirk des Cytoplasmas zu beherrschen suchen. Eine gesetzmäßige Verteilung solcher Kraftcentren wird für das Gleichgewicht des ganzen Zellinhalts eine wesentliche Bedingung bilden müssen, und eine »Gleichgewichtslage« mehrerer unter sich nicht verbundener Sphären läßt sich daher ohne irgend welche in oder zwischen den Centren wirksamen Kräfte nur durch ihre passive Verlagerung im Cytoplasma erreichen.

Dasselbe gilt auch, wenn an der Stelle einzelner Sphären von ganzen Sphärenkomplexen (gleichgültig ob dieselben zwei- oder mehrpolig sind) die Rede ist, wenn nur die betreffenden Komplexe unter sich nicht durch Spindeln verbunden sind. — Sie werden den Gleichgewichtslagen des Zellkörpers gemäß ihre gegenseitige Lage einnehmen müssen, indem die größeren Komplexe der Mitte näher zu liegen kommen, die kleineren dagegen oder die freien Sphären der Peripherie genähert sind.

Anders steht aber die Sache, sobald wir das gegenseitige Verhalten der zu einem und demselben Komplex gehörigen Sphären betrachten. — Diese Sphären wirken nicht mehr wie ebensoviele getrennte Einlagerungen im Cytoplasma; Spindeln und Sphären können als ein Ganzes innerhalb der Zelle verlagert (F. R. Lillie 1908) oder in verschiedener Weise gedreht werden[1]. — Das Gleichgewicht der

[1] Ich habe selbst einmal Gelegenheit gehabt zu sehen, wie in einer Blastomere von *Rhabdonema*, während der plötzlichen Durchschnürung der Nachbarzelle, die ganze karyokinetische Figur mit Sphären und Spindel in pendelförmige Schwingungen versetzt wurde.

Zelle verlangt von einem solchen Komplex nichts andres, als daß er in einem von seiner Form bestimmten Verhältnis zur karyokinetischen Ebene seine Stellung einnehmen soll, indem, wie von BALTZER gezeigt, seine größeren Sphären dem Centrum, die kleineren der Peripherie näher zu liegen kommen. Der gegenseitige Abstand der einzelnen Sphären wird dagegen für das Gleichgewicht der Zelle von keinem Belang sein; sie werden sich daher als Folge der innerhalb des Komplexes wirksamen Kräfte frei nähern oder entfernen oder ihren Abstand unverändert behalten können.

Die für die gegenseitige Lage freier Sphären oder Sphärenkomplexe geltenden Gesetze lassen sich nach dem obigen nicht ohne weiteres auch auf durch Spindeln verbundene Sphären anwenden. Aus dem Abstand und der Anordnung freier Sphären lassen sich wohl auf die in der Zelle herrschenden Gleichgewichtsgesetze, nicht aber auf die karyokinetischen Kräfte, die innerhalb eines Sphärenkomplexes wirksam sind, Schlüsse ziehen.

Kehren wir nach dieser Digression wieder zu den von M. BOVERI beschriebenen Mitosen mit einseitiger Chromosomenbindung zurück. — Aus irgend einem Grunde war in diesen Zellen keine Centralspindel zur Entwicklung gekommen, sondern die beiden Sphären wurden schon auf den frühesten zur Beobachtung gelangten Stadien weit voneinander entfernt und ohne verbindende Fasern vorgefunden. — Der erste Ursprung dieses abnormen Verhaltens läßt sich aus den vorliegenden Beobachtungen nicht erkennen. Wie aber auch die Abnormität zuerst hervorgerufen sein mag, sicher ist: sobald die beiden Sphären als zwei getrennte Einlagerungen des Cytoplasmas daliegen, sind sie auch den im Zellkörper immer wirksamen Gleichgewichtsbestrebungen in wesentlich andrer Weise ausgesetzt, als wenn sie in der normalen Karyokinese nur als die aufgetriebenen Enden einer und derselben spindelförmigen Einlagerung ihre Wirksamkeit üben.

Die Sphären werden also wegen des Fehlens einer Centralspindel sogleich ihre »Gleichgewichtslage«, oder wie ich lieber sagen möchte, ihre von dem Gleichgewicht der ganzen Zelle diktierte Lage einnehmen müssen, wobei sie aber auch zu weit voneinander entfernt worden sind, um an einer gesetzmäßigen Verteilung der Tochterchromosomen zusammenwirken zu können.

Von diesem Gesichtspunkte aus läßt sich der von M. BOVERI ausgesprochene Satz, »daß die Spindel eine Koppelung der Sphären

bewirkt, welche dieselben am Auseinanderweichen verhindert«, wohl noch aufrecht halten; doch dürfen aus dieser Tatsache auf die während der Karyokinese wirksamen Kräfte keine weiteren Schlüsse gezogen werden. Die zusammengekoppelten Sphären können sich aktiv oder passiv gegenseitig nähern oder entfernen, ohne daß diese Bewegungen bei einem Vergleich mit solchen Sphären, die aus dem Wirkungsgebiet karyokinetischer Kräfte in dasjenige der Gleichgewichtsbestrebungen des Zellkörpers übergeführt worden sind, in Betracht kommen können.

Wie lassen sich nun auf Grundlage der obigen Erörterungen die in der Einleitung gestellten Fragen beantworten?

Wir haben gefunden, daß die Bilder der Polstrahlung und besonders der Centralspindel unter Umständen Formationen annehmen können, die mit der Hypothese, daß sie Kraftlinien zwischen entgegengesetzt wirkenden Polen Ausdruck geben sollten, unvereinbar sind.

Weiter sind wir zu dem Resultat gekommen, daß die Centren, obwohl sie durch ihren Einfluß auf das umgebende Hyaloplasma die ersten Erreger der Karyokinese sind, doch nicht aktiv ihre Bewegungen ausführen. Freie Centren werden mit ihren Sphären den Gleichgewichtsgesetzen des Zellkörpers gemäß im Cytoplasma verlagert; die Sphären einer karyokinetischen Figur werden dagegen als Folge der Verlängerung der zwischen ihnen befindlichen Centralspindeln voneinander entfernt.

Polstrahlung und Centralspindel sind wahrscheinlich, ihrem Ursprung sowohl als ihrem übrigen Verhalten nach, von den Zugfasern wesentlich verschieden. Während die letzteren als mehr oder weniger feste Verbindungen zwischen Centren und Chromosomen aufgefaßt werden müssen, sind die beiden ersteren Strahlungsgruppen nur als die sichtbaren Ausdrücke der durch die Centrenwirksamkeit hervorgerufenen Strömungen im Cytoplasma zu betrachten. — Eine Faserbildung wird jedoch auch in Polstrahlung und Centralspindel dadurch vorgetäuscht, daß die Mikrosomen aus den Stellen größter Hyaloplasmadichtigkeit ausgeschieden werden, um an der Grenzfläche dieser Stellen als eine zusammenhängende Lage liegen zu bleiben. Wo die Wirksamkeit der Centren sich in gewissen Richtungen vorzugsweise bemerkbar macht (Radien der Polstrahlung, Druckkurven der

Centralspindel), werden die zur Seite geschobenen Mikrosomen feine Röhrchen bilden müssen, die oft länger bestehen bleiben können als die Strömung selbst.

Die Strömungsrichtung ist in Polstrahlung und Centralspindel eine entgegengesetzte, — während der früheren Teilungphasen durch die Polstrahlungen zentripetal und von den beiden Centren in die Centralspindel hinein; nach dem Aufhören der Centrenwirksamkeit wird dann später das Gleichgewicht der Zelle durch eine Rückströmung des verdichteten Hyaloplasmas wiederhergestellt.

Centralspindel und Zugfasern müssen bei einer normal verlaufenden Karyokinese in gesetzmäßiger Weise zusammenwirken. — Als Folge der Verlängerung der Centralspindel werden die Centren voneinander entfernt, und die Zugfasern werden unter Einordnung der Chromosomen in die Äquatorialplatte möglichst weit gestreckt. — Der von den Zugfasern dabei geübte Widerstand ist auf der andern Seite notwendig, um der Verlängerung der Centralspindel im rechten Augenblick Halt zu gebieten und so eine Rückströmung einzuleiten. Wenn dies aus irgend einem Grunde nicht geschieht, wird die Centralspindel als eine Zone größerer Dichtigkeit ein Hindernis gegen die Durchschnürung des Zellkörpers bilden müssen.

Nur eine »primäre« Centralspindel kann in der hier vorausgesetzten Weise als karyokinetisch wirksam aufgefaßt werden.

Kristiania, im August 1909.

Literatur.

Baltzer, F. 1908. Über mehrpolige Mitosen bei Seeigeleiern. Verh. Phys. med. Ges. Würzburg. N. F. Bd. 39.

Beneden, E. van. 1883. Recherches sur la maturation de l'œuf et la fécondation. Arch. de Biol. T. 4.

Bonnevie, K. 1906. Untersuchungen über Keimzellen. I. Beobachtungen an den Keimzellen von Enteroxenos östergreni. Jen. Zeitschr. Bd. 41.

—— 1908. Chromosomenstudien. II. Heterotypische Mitose als Reifungscharakter. Arch. f. Zellforschung. Bd. 2.

Boveri, M. 1903. Über Mitosen bei einseitiger Chromosomenbindung. Jen. Zeitschr. Bd. 37.

Boveri, Th. 1888. Zellenstudien. II. Die Befruchtung und Teilung des Eies von Asc. meg. Jena.

—— 1892. Befruchtung. Ergebn. Anat. u. Entw. Bd. 1.

—— 1897. Zur Physiologie der Kern- und Zellteilung. Sitz.-Ber. Phys.-med. Ges. Würzburg.

—— 1900. Zellenstudien IV. Über die Natur der Centrosomen. Jena.

BÜTSCHLI, O. 1876. Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zellteilung und die Konjugation der Infusorien. Abhandl. Senckenb. nat. Ges. Bd. 10.

FISCHEL, A. 1899. Über vitale Färbung von Echinodermeneiern. Anat. Heft. H. 37.

—— 1906. Zur Entwicklungsgeschichte der Echinodermen. I. Zur Mechanik der Zellteilung. II. Versuche mit vitaler Färbung. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 22.

*) GALLARDO, A. 1896. Essai d'interprétation des figures kariokinétiques. Ann. Mus. Nac. de Buenos Aires. T. 5.

*) —— 1902. Interpretation dinámica de la división cellular. Buenos Aires.

* —— 1906. L'interprétation bipolaire de la division karyokinétique. Anal. Mus. Nac. de Buenos Aires. T. 13.

—— 1909. La division de la cellule phénomène bipolaire de caractère électrocolloidal. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 28.

GOLDSCHMIDT, R. 1905. Eireifung, Befruchtung und Embryonalentwicklung des Zoogonus mirus. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ont. Bd. 21.

HARTOG, M. 1905. The Dual Force of the Dividing Cell. Pt. I. The Achromatic Spindle Figure Illustrated by Magnetic Chains of Force. Proc. Roy. Soc. London. B. Vol. 76.

*) —— 1907. The Dual Force of the Dividing Cell. Science Progress. N. Iss. Vol. 1.

*) —— 1908. The Dynamics of Mitotic Cell Division. Rivista di Scienza. Vol. 2.

—— 1909. Mitokinetism in the mitotic spindle and in the Polyasters. Arch. f. Entw. Mech. Bd. 27.

HEIDENHAIN, M. 1894. Neue Untersuchungen über die Centralkörper und ihre Beziehungen zum Kern- und Zellenprotoplasma. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 43.

KOSTANECKI, K. v. 1897. Über die Bedeutung der Polstrahlung während der Mitose und ihr Verhältnis zur Teilung des Zelleibes. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 49.

LILLIE, F. R. 1908. A Contribution towards an experimental Analysis of the Karyokinetic Figure. Science. N. S. Vol. 27.

—— 1909. Karyokinetic Figures of Centrifuged Eggs. An experimental Test of the Center of Force Hypothesis. Biol. Bull. Vol. 17.

MEVES, F. 1896. Zellteilung. Ergebn. Anat. u. Entw. Bd. 6.

—— 1897. Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von Salamandra maculosa. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 48.

—— 1898. Zellteiluug. Ergebn. Anat. u. Entw. Bd. 8.

REINKE, F. 1900. Zum Beweis der trajektoriellen Natur der Plasmastrahlungen. Ein Beitrag zur Mechanik der Mitose. Arch. f. Entw. Mech. Bd. 9.

RHUMBLER, L. 1896. Versuch einer mechanischen Erklärung der indirekten Zell- und Kernteilung. I. Die Cytokinese. Arch. f. Entw. Mech. Bd. 3.

—— 1897. Stemmen die Strahlen oder ziehen sie? Arch. Entw. Mech. Bd. 4.

—— 1898. Die Mechanik der Zelldurchschnürung nach MEVES und nach meiner Auffassung. Arch. Entw. Mech. Bd. 7.

—— 1900. Physikalische Analyse von den Lebenserscheinungen der Zelle. II. Mechanik der Abrückung von Zelleinlagerungen aus Verdichtungs-

centren der Zelle (im Anschluß an FISCHELS Vitalfärbungen von Echinodermeneiern und BÜTSCHLIS Gelatinespindeln erläutert). Arch. f. Entw. Mech. Bd. 9.
RHUMBLER, L. 1903. Mechanische Erklärung der Ähnlichkeit zwischen magnetischen Kraftliniensystemen und Zellteilungsfiguren. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 16.
ROUX. 1895. Beschreibung und Erläuterung einer knöchernen Kniegelenksankylose. Ges. Abh. Bd. I.
TEICHMANN, E. 1903. Über die Beziehungen zwischen Astrosphären und Furchen. Experimentelle Untersuchungen am Seeigelei. Arch. f. Entw. Mech. Bd. 16.
WILSON, E. B. 1892. The Cell-lineage of Nereis. Journ. of Morph. Vol. 6.
—— 1901. Experimental studies of cytology. I. A Cytological Study of Artificial Parthenogenesis in Sea-urchin Eggs. Arch. Entw. Mech. Bd. 12.
ZIEGLER, H. E. 1897. Experimentelle Studien über die Zellteilung. II. Furchung ohne Chromosomen. Arch. Entw. Mech. Bd. 6.
—— 1898. Experimentelle Studien über die Zellteilung. III. Die Furchungszellen von Beroë ovata. Arch. Entw. Mech. Bd. 7.

Die mit * bezeichneten Arbeiten sind mir nur durch Referate bekannt.

Tafelerklärung.

Sämtliche Abbildungen mit Ausnahme der Figuren 23—25 sind mit einer Vergrößerung von etwa 1250:1 ausgeführt. Für die benutzten Fixationsflüssigkeiten gelten die folgenden Abkürzungen: Fl. = FLEMMINGS Flüssigkeit; P. E. = Pikrin-Essigsäure; P. F. = BOUINS Flüssigkeit (Picro-Formalin).

Tafel I.

Fig. 1. Prophase der zweiten Reifungsteilung im *Nereis*-Ei. Der Spermakern mit seiner Strahlung ist am unteren Rand der Figur sichtbar. P. E.

Fig. 2. Die Spermastrahlung ist bis an den Radius der Reifungsspindel in das Ei hineingerückt. P. E.

Fig. 3—4. Entwicklung einer sekundären Spindel zwischen dem inneren Eicentrum und dem Spermocentrum. P. E.

Fig. 5. Ein disperm befruchtetes Ei mit zwei sekundären Spindeln. P. E.

Fig. 6—7. Anaphase der zweiten Reifungsteilung mit beginnender Verkürzung der sekundären Spindel. Fig. 6. P. E.; Fig. 7. Fl.

Fig. 8. Inäquale Frühteilung des Spermocentrums. P. E.

Tafel II.

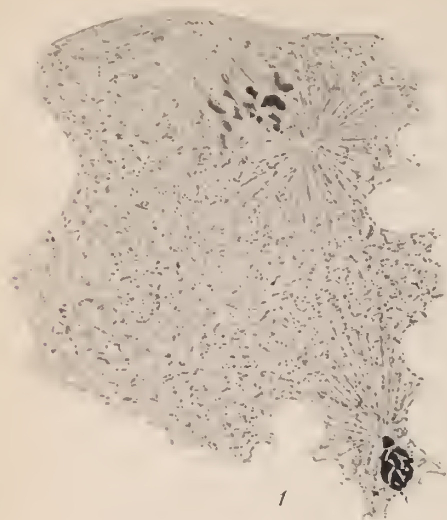
Fig. 9—10. Entwicklung der beiden Vorkerne mit weiterer Verkürzung der sekundären Spindel. P. E.

Fig. 11. Inäquale Frühteilung des Spermocentrums. Fl.

Fig. 12—13. Medianschnitte zweier Eier mit Furchungscentren und Vorkernen. Fl.

Fig. 14. Äquatorialer Schnitt eines ähnlichen Stadiums. Fl.

Fig. 15. Inäquale Teilung des Furchungscentrums. Fl.



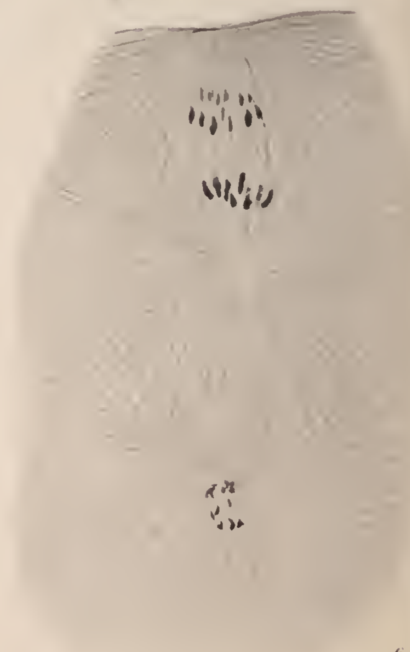
1



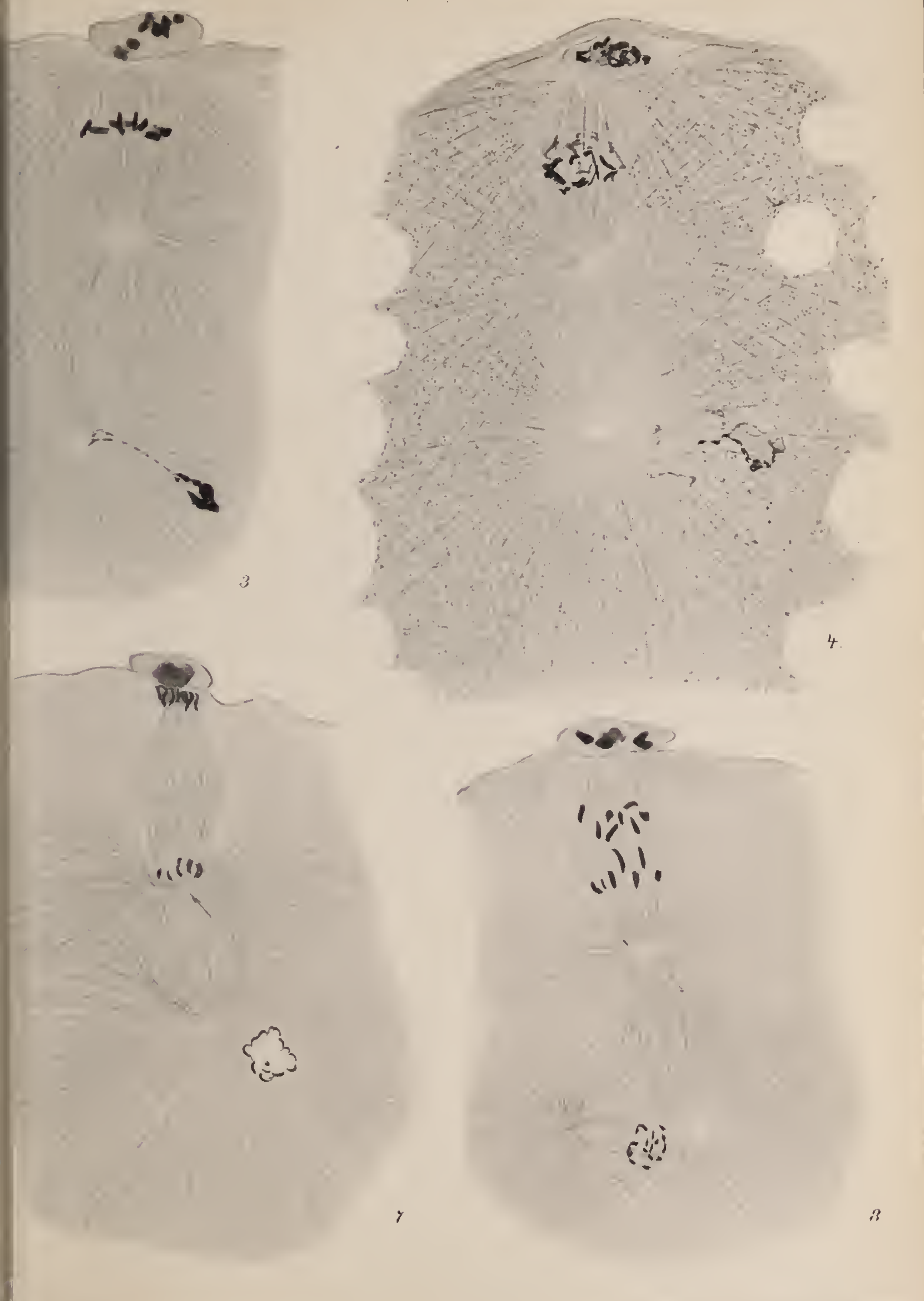
2

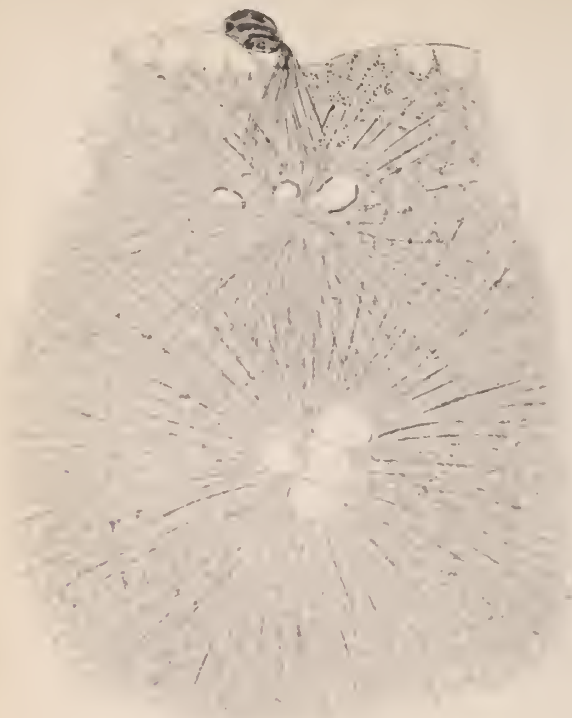


5

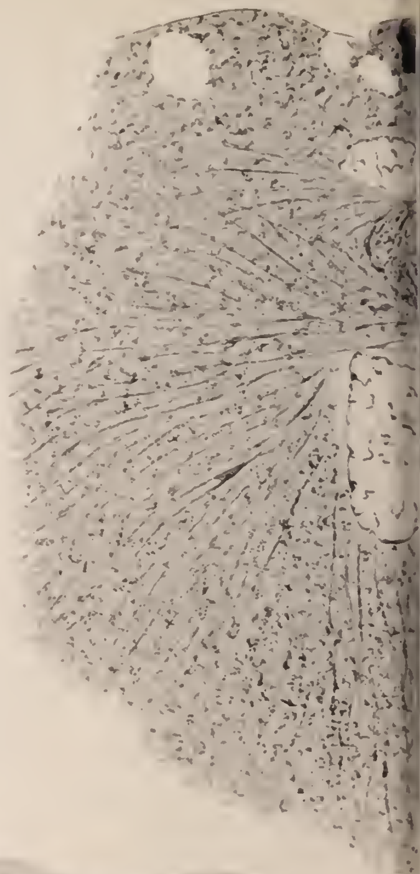


6


3
4.
7
8



9



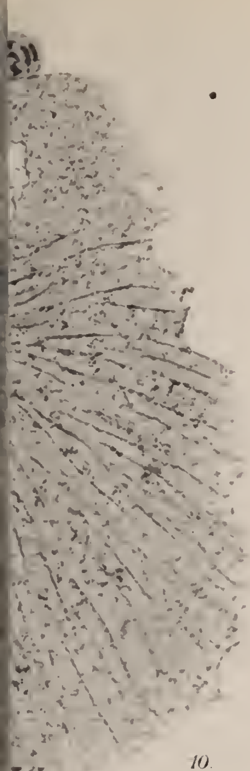




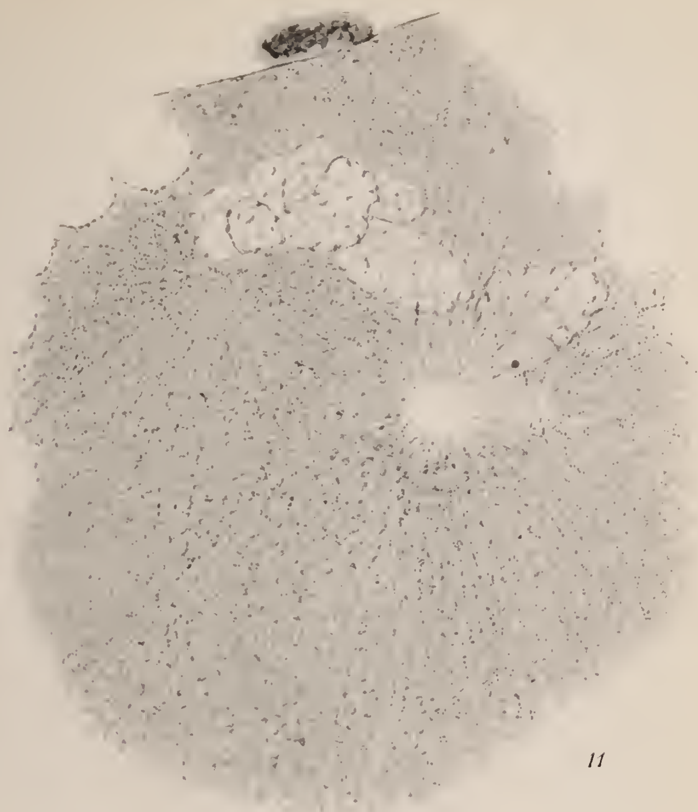
13.



12



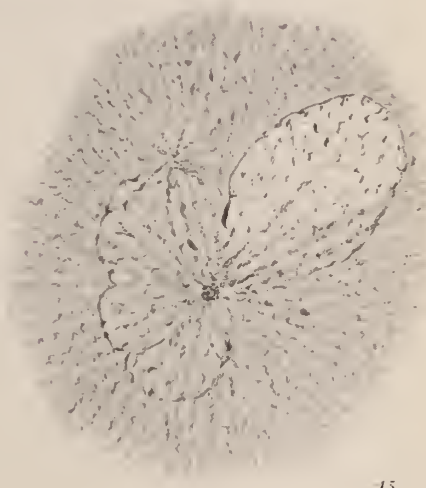
10.



11



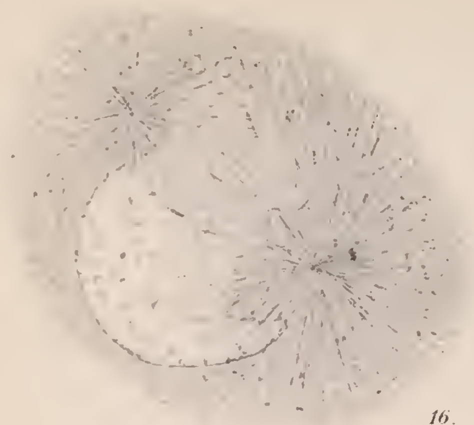
14.



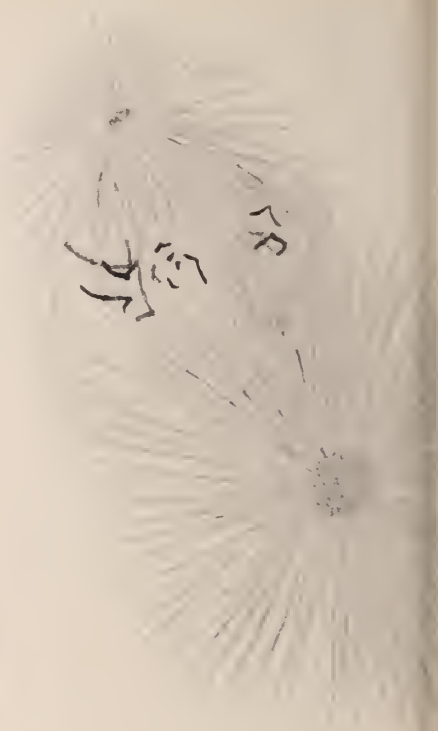
15.

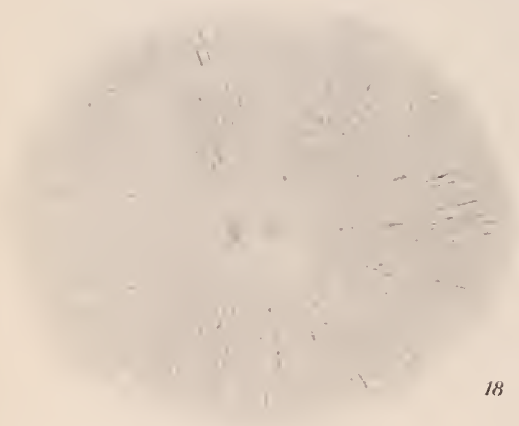
...nn, Leipzig

Lichtdruck v. C. G. Roder G. m. b. H. Leipzig

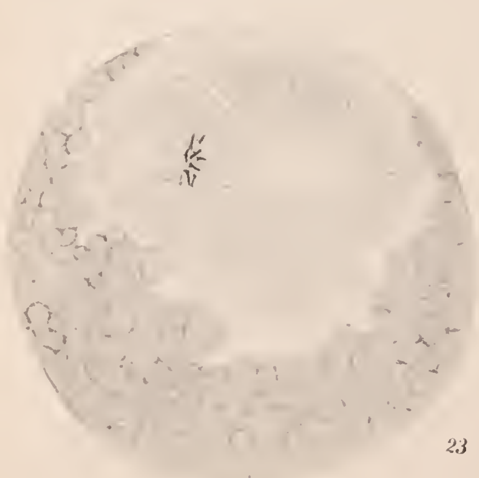


16.

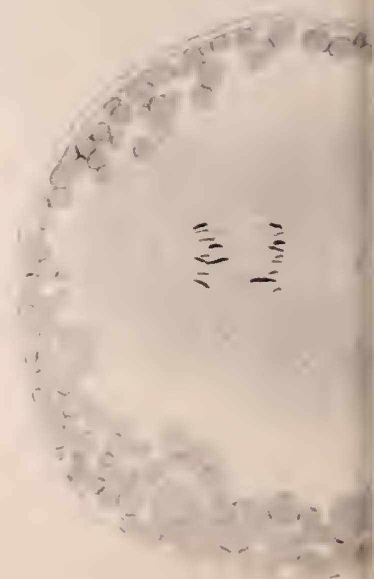


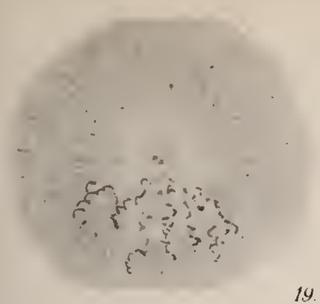


18



23



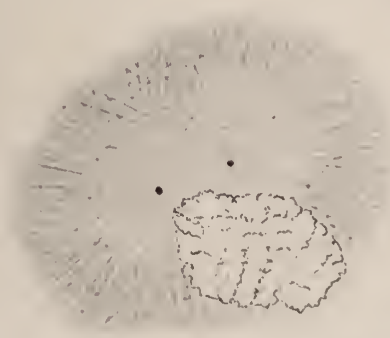


19.

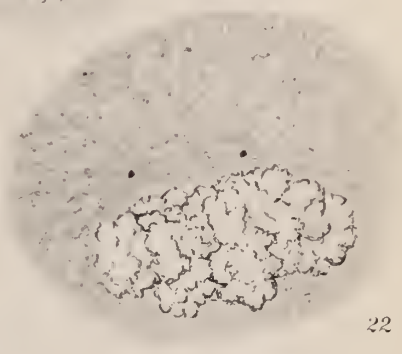


20

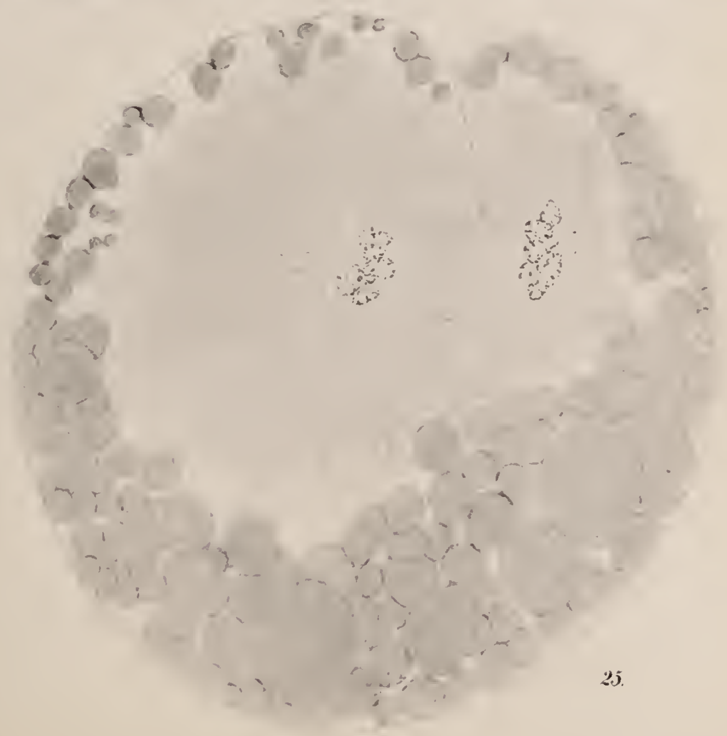
17



21.



22



25.

4

...nann Leipzig

Lith. Druck v. C. G. Röder G.m.b.H. Leipzig.

Tafel III.

Fig. 16—17. Prophasen der heterodynamischen ersten Furchungsteilung. Fl.

Fig. 18. Polstrahlung und Tochtercentren des großen Pols der ersten Furchungsteilung. Fl.

Fig. 19—22. Entwicklung der Centralspindel der zweiten Furchungsteilung, während der Telophase der ersten vor sich gehend. Fig. 19. P. F. Fig. 20, 21, 22. P. E.

Fig. 23—25. Halbschematische Abbildungen dreier Schnitte aus der ersten Furchungsteilung. Fig. 24. Fl.; Fig. 23, 25. P. E.



Über Eireifung und Eiablage bei Copepoden.

Von

Hermann Matscheck.

(Aus den Zoologischen Instituten der Technischen Hochschule Stuttgart und der Universität Tübingen.)

Hierzu 30 Textfiguren und Tafel IV—VIII.

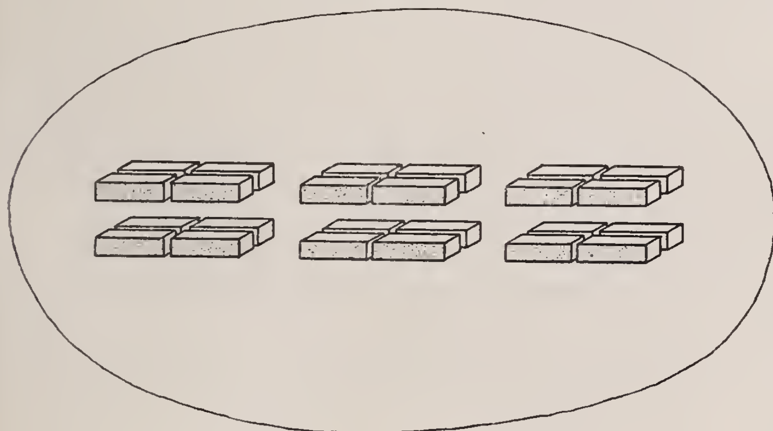
Inhaltsverzeichnis.

Einleitung.

Durch die Arbeit von Lerat (1905) ist die Frage nach der Entstehung der Vierergruppen und nach dem Verlauf der Reifungsteilungen bei den Copepoden von neuem aufgerollt worden.

Rückert, Häcker, vom Rath hatten in einer Reihe von Untersuchungen festgestellt, daß die Chromosomen der Reifungsperiode in der Oogenese bei den Copepoden großenteils die Form von »Vierergruppen« haben, und waren zu der Ansicht gelangt, daß die Reifungsteilungen nach dem Typus der Prääquation—Postreduktion verlaufen. Dagegen stellt Lerat (1905) das Vorkommen »echter Tetraden« (Grégoire) bei der Oo-

Textfig. 1.



Biseriale Anordnung. Schematisch.

genese der Copepoden gänzlich in Abrede und läßt die Reifungsteilungen nach dem »hetero-homöotypischen Schema« vor sich gehen (Präreduktion-Postäquation).

Nun hat aber Braun (1907) gezeigt, daß ebenso wie bei *Cyclops viridis* (*brevicornis*) (Häcker 1895, 1902) auch bei einer großen Reihe von andern Cyclopiden die Chromosomen während der »biserialen Anordnung« — d. i. in derjenigen Phase der ersten Reifungsteilung, während welcher die Eier aus dem Ovidukt austreten, — längsgespaltene, quergekerbte Stäbchen sind, die sich in zwei Ebenen paarweise gegenüberliegen. (Textfig. 1). So war also ein Teil der Resultate der erstgenannten Forscher aufs neue bestätigt worden, und es galt also, die Widersprüche zwischen ihnen und Lerat vollends auszugleichen.

Von den Untersuchungen BRAUNS ausgehend habe ich daher zunächst versucht, durch Heranziehung andrer Copepodengruppen, nämlich der Centropagiden und Harpacticiden, unsre Kenntnisse der »biserialen Anordnung« zu erweitern und zu zeigen, in wieweit die bei Centropagiden und Harpacticiden auftretenden Bilder mit denen von *Cyclops* sich vereinigen lassen.

Es lag dann nahe, diese vergleichende Untersuchung nicht auf die »biseriale Anordnung« zu beschränken, sondern sie sowohl auf die Vorgeschichte dieser charakteristischen Phase als auch auf die Reifungsteilungen auszudehnen, so daß ich nach und nach mit der ganzen Oogenese bekannt wurde.

Bei Gelegenheit dieser Untersuchungen ergaben sich endlich auch neue Beobachtungen über die Eiablage einiger seltener Copepoden, besonders der *Heterocope*-Arten.

Ich werde mich aber hier nicht an diese durch den Gang der Untersuchung geschaffene Disposition halten, sondern nach einigen einleitenden Bemerkungen über Material und Methode meine Beobachtungen über den Bau von Ovar und Ovidukt, über Dotterbildung und Eiablage bei den Copepoden mitteilen und dann zum Hauptgegenstand meiner Untersuchung, zu den kerngeschichtlichen Verhältnissen, übergehen.

Es sei mir gestattet, an dieser Stelle meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. V. HÄCKER, für die Anregung zu dieser Arbeit und für das Interesse, das er ihr entgegenbrachte, herzlich zu danken. Ebenso bin ich meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. BLOCHMANN, in dessen Institut ich diese Arbeit vollenden konnte, für seine Unterstützung zu großem Dank verpflichtet.

Spezieller Teil.

Material.

Ich habe so viele Copepodenspezies untersucht, als ich überhaupt bekommen konnte. Es sind Vertreter der Genera *Cyclops*, *Canthocamptus*, *Diaptomus* und *Heterocope* darunter, nämlich

Cyclops MÜLLER.
C. fuscus JURINE.
C. albidus JURINE.
C. fuscus var. *distinctus* RICHARD (Bastard? *fuscus-albidus*).
C. serrulatus FISCHER.

C. prasinus Fischer.
C. affinis Sars.
C. phaleratus Koch.

C. strenuus Fischer.
C. insignis Claus.
C. Leuckarti Claus.
C. Dybowskii Lande.
C. bicuspidatus Claus.
C. bicuspidatus var. *odessana* Schmankewitsch.
C. vernalis Fischer.
C. viridis Jurine.
C. gracilis Lilljeborg.

Canthocamptus Westwood.
C. staphylinus Jurine.

Diaptomus Westwood.
D. castor Jurine.
D. salinus v. Daday.
D. coeruleus Fischer.
D. gracilis Sars.
D. laciniatus Lilljeborg.
D. denticornis Wierzejski.

Heterocope Sars.
H. weismanni Imhof.
H. saliens Lilljeborg.

Sämtliche Copepoden wurden nach Schmeil (1892—1896) bestimmt, und auch in der Nomenklatur habe ich mich an ihn gehalten.

Die Beschaffung des Materials machte nur Schwierigkeiten, wo es sich um die selteneren Formen handelte. Dank der Unterstützung von Herrn Prof. V. Häcker und von Herrn Prof. Klunzinger war es mir möglich, auch weiter entlegene Örtlichkeiten aufzusuchen. So fischte ich *Heterocope weismanni* im Bodensee, *Heterocope saliens*, *Diaptomus denticornis* und *Diaptomus laciniatus* im Titisee im badischen Schwarzwald und z. T. auch in dem in der Nähe des Titisees gelegenen Feldsee. Die weitaus größte Zahl der angeführten Formen fand ich in Altwassern des Neckars in der Nähe meines Wohnortes (Eßlingen). Gut konserviertes Material von *Diaptomus salinus* aus dem Ritom-See in Graubünden verdanke ich der Freundlichkeit von Frl. stud. rer. nat. O. Krimmel.

Methode.

Fang der Tiere.

In größern Gewässern (Bodensee, Titisee, Feldsee) wurden die Tiere vom Kahn aus mit dem Planktonnetz gefischt. Für kleine Gewässer (Tümpel, Altwasser) genügte in den meisten Fällen ein kleines Gazenetz mit langem Stiel. Nach flüchtiger Durchmusterung wurde dann gewöhnlich der ganze Fang in Blechkannen nach Hause gebracht, daselbst bestimmt, ausgelesen und konserviert.

Handelte es sich aber darum, die Stadien der Richtungskörperbildung und die ersten Furchungsstadien zu bekommen, so wurde anders verfahren, denn man findet diese Stadien nur in ganz frisch abgelegten Eiern (s. auch S. 52). Es mußte zuerst ein Tümpel gefunden werden, in welchem die Spezies, deren Eiablage gerade gewünscht wurde, in möglichst großer Individuenzahl vorkam. Sodann wurde die betreffende Örtlichkeit unter steter Kontrolle gehalten, bis die Tiere anfingen, zur Eiablage zu schreiten. Bringt man nun eine möglichst große Menge solcher Tiere nach Hause und verteilt dort die ♀♀, welche dunkle, prall mit Eiern gefüllte Ovidukte haben, auf mit Pflanzen (Algen, Elodea usw.) besetzte flache, weiße Schalen, so kann man bald die Eiablage beobachten. Nur dürfen die Tiere durch den Transport, Temperatur- und Wasserwechsel nicht gelitten haben. In günstigen Fällen konnte ich an solchem Material bis zu 100 Ablagen im Verlauf weniger Stunden beobachten und konservieren.

Ich habe dieses Verfahren, dessen wichtigste Züge Häcker schon 1899 S. 81ff. angegeben hat, mit Absicht ausführlich geschildert, denn mit seiner Hilfe ist es möglich, alle Stadien der Richtungskörperbildung zu erhalten. Auch die Aneinanderreihung der Stadien ist eine unbedingt sichere, denn man kann die einzelnen Tiere, deren Eiablage man beobachtete, in ganz bestimmten Zeitintervallen konservieren. Auf diese Weise ist es auch möglich, genaue Zeitangaben über die Dauer der einzelnen Phasen der Reifungsteilungen zu machen.

Man darf aber die Tiere nicht lange gefangenhalten, da sonst die Eiablagen abnorme Verhältnisse zeigen können.

Konservierung.

Zum Konservieren wurde eine Reihe der gebräuchlichsten Fixierungsflüssigkeiten benutzt.

Hermannsche, Flemmingsche, vom Rathsche Flüssigkeit ergaben gleiche Resultate. Die meisten Stadien wurden durch diese Agentien gut

fixiert. Im Keimbläschenstadium verschwanden aber bei dieser Behandlung die feineren Einzelheiten vollständig. Der Kern erscheint völlig homogen und glasig. Wie FLEMMING (1895) den Ausführungen von RAWITZ (1895) gegenüber betont, handelt es sich bei dieser Erscheinung aber nicht um eine durch die Osmiumsäure verursachte »Zertrümmerung« des Kerngerüsts, sondern der Kernsaft (Grundsubstanz) erhält durch die Osmiumsäure einen gleichen oder ähnlichen Brechungsindex wie das Kerngerüst. Störend ist bei allen drei Konservierungsflüssigkeiten, daß das Kernplasma sehr dunkel wird. Behandlung der Objekte mit H_2O_2 zur Behebung der Schwärzung hatte wenig Erfolg.

Sodann wurden hauptsächlich Sublimatgemische verwendet. Ein Sublimat-Alkohol-Gemisch, wie es HÄCKER (1892) angegeben hat, erwies sich als allen andern Sublimatgemischen, namentlich den Sublimat-Säure-Gemischen, überlegen. Insbesondere kamen die Keimbläschenstrukturen vorzüglich zum Vorschein.

Färbung.

Kleinere Tiere und Eier wurden, um sie bei der nachfolgenden Behandlung nicht zu verlieren und um sie im Paraffin besser orientieren zu können, mit Alaunkarmin oder Boraxkarmin vorgefärbt. Die 5—15 μ dicken Paraffinschnitte wurden mit BÖHMERschem und DELAFIELDschem Hämatoxylin gefärbt und zur Verstärkung der Färbung manchmal noch mit Safranin, Methylgrün, Jodgrün, Bismarckbraun nachgefärbt. Sehr gute Färbungen ergaben sich bei Durchfärbung mit Bismarckbraun und Schnittfärbung mit Hämatoxylin nach BÖHMER und DELAFIELD.

Andre Färbungen, wie z. B. HEIDENHAINsches Eisenhämatoxylin, wurden nur gelegentlich angewendet.

Bau von Ovar und Ovidukt.

Angaben über den Bau von Ovar und Ovidukt bei solchen Copepoden, mit denen sich auch diese Arbeit befaßt, haben HÄCKER (1895) und LERAT (1905) gemacht.

Das »blinde Ende« des Ovars von *Canthocamptus staphylinus* ist nach der Darstellung HÄCKERS (1895, Taf. XIV, Fig. 2) zweizipflig. Es erstreckt sich von hinten vom Ende des ersten Cephalothoraxsegments bis nach vorn in die Nähe des oberen Schlundganglions, wo jederseits ein unverästelter Oviduktast abgeht. Jeder Zipfel des Ovars enthält ein Keimpolster, kleine chromatinreiche Kerne, von denen sich wohl die Oogonien herleiten lassen.

Lerat (1905. Taf. I. Fig, 1) fand, daß das »blinde Ende« des Ovars von *Cyclops strenuus* unpaar ist und von einer durch besondere Größe und Chromatinreichtum ausgezeichneten Zelle eingenommen wird, die er »Apikalzelle« nennt. Lerat ist geneigt, von dieser Zelle die Oogonien herzuleiten.

Bei der großen Menge des Materials, das mir zur Verfügung stand, hatte ich hinreichend Gelegenheit, vergleichende Beobachtungen über den Bau von Ovar und Ovidukt zu machen. Das Ovarium liegt bei allen untersuchten Copepoden als ein paariger, zweiteiliger, zweizipfliger oder unpaariger, blindgeschlossener Sack median zwischen Darm und dorsaler Körperwand. Seine Länge ist bei den einzelnen Copepodenarten verschieden und hängt auch vom Füllungsgrad ab.

Die Stelle, wo die beiden Oviduktäste vom Ovar abgehen, lag bei allen untersuchten Copepoden eine kurze Strecke hinter dem oberen Schlundganglion. Dagegen kann das »blinde Ende« des Ovariums verschieden weit nach hinten verlagert sein. Einen ganz extremen Fall stellt *Cyclops phaleratus* dar. Das Ovar reicht bei ihm bis an das Abdomen, ist also außerordentlich lang. Die kleineren Cyclopiden, *C. gracilis*, *C. prasinus*, *C. serrulatus* u. a. nähern sich in der Länge des Ovariums mehr den Verhältnissen von *Canthocamptus* (s. oben S. 41). Die großen Cyclopiden, sowie *Diaptomus* und *Heterocope* nehmen eine vermittelnde Stellung ein.

Mehr konstant ist die allgemeine Form des Ovars, wenn man von den durch verschiedene Füllungszustände bedingten Veränderungen absieht. So ist das Ovar ein unpaarer Sack bei *Heterocope*, *Diaptomus* sowie bei einer großen Gruppe von Cyclopiden, nämlich bei *C. strenuus*, *C. insignis*, *C. Dybowskii*, *C. bicuspidatus*. *C. Leuckarti*, *C. vernalis*, *C. viridis* *C. gracilis*, *C. diaphanus*. Dies sind, wie leicht ersichtlich, die Cyclopiden, welche Vosseler (1866) und Schmeil (1892, S. 35—37) unter ihrer ersten Hauptgruppe zusammengefaßt haben.

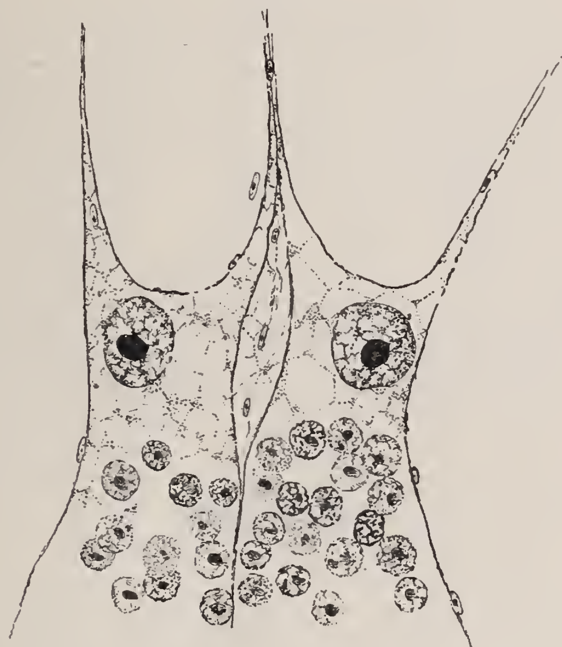
Zweiteilig bis paarig ist das Ovar bei den Cyclopiden, welche Vosseler und Schmeil (1892, S. 35—37) in ihrer zweiten Hauptgruppe unterbrachten, nämlich bei *C. fuscus*, *C. albidus*, *C. fuscus* var. *distinctus*, *C. serrulatus*, *C. prasinus*, *C. phaleratus*, *C. affinis*.

Es ist vielleicht von systematischem Interesse, daß diese von mir vorgenommene Teilung der Cyclopiden in zwei durch das verschiedene Verhalten des Ovars (paarige Anlage — unpaarige Anlage) wohlcharakterisierte Gruppen sich genau mit der von Vosseler und Schmeil (1892, S. 35—37) auf Grund von äußeren morphologischen Merkmalen durchgeführten Zweiteilung deckt und andrerseits auch mit der von Braun

(dieses Archiv, 1909) auf Grund keimzellengeschichtlicher Beobachtungen aufgestellten Verwandtschaftstabelle gut übereinstimmt.

Das »blinde Ende« des Ovariums ist bei den von mir untersuchten Copepoden nicht geradegestreckt, sondern dorsalwärts umgebogen, bei *Cyclops* und *Canthocamptus* mehr, bei *Diaptomus* und *Heterocope* weniger. Das umgebogene Ende ist mit kleinen, chromatinreichen Kernen angefüllt, die wohl mit dem »Keimpolster« Häckers (1895) identisch sind.

Textfig. 2.



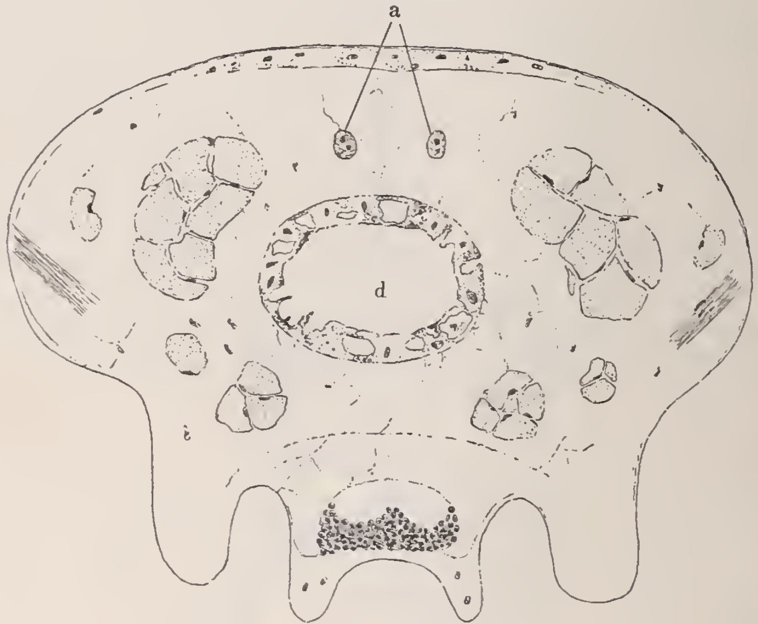
Apikalzellen von *Cyclops fuscus* am Ende des zweigeteilten Ovars.

Zuletzt seien noch einige den Bau des Ovars betreffende Befunde erwähnt, denen aber keine allgemeine Bedeutung zukommt und die z. T. schon in das kerngeschichtliche Gebiet überleiten. So fand ich in einem Fall am Ende des Ovars eines erwachsenen *Cyclops phaleratus* einen Kern bzw. eine Zelle, die dem Ovarende kappenförmig auflag (Fig. 32). Der Kern, der sich offenbar in einer vorbereitenden Teilungsphase befand, zeichnete sich durch seine Größe vor den folgenden Kernen des Keimpolsters aus. Es handelt sich hier, wie bei der oben erwähnten »Apikalzelle« von Lerat, vielleicht nur um eine Zelle des Keimpolsters, die sich

zur Teilung anschickt und infolge ihrer Größe über ihre Genossinnen hervorragt.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei jungen Exemplaren von *Cyclops fuscus*, *Cyclops albidus* und *Cyclops fuscus* var. *distinctus*, wo ich das Ende eines jeden Ovarschenkels stets von einem großen, chromatinreichen Kern eingenommen fand, der in einem gewissen Abstand von den folgenden kleinen Kernen der Keimzone liegt (Textfig. 2 u. 3). Bei alten

Textfig. 3.



Querschnitt durch einen jungen *Cyclops fuscus*. Links und rechts über dem Darm (*d*) sind die beiden Apikalzellen (*a*) getroffen.

Exemplaren der genannten Species war von diesen Kernen bzw. Zellen, die ja auch den Namen Apikalzellen verdienen, nichts mehr zu finden.

Meiner Meinung nach läßt dieses Vorkommen zwei Deutungen zu. Entweder lassen diese beiden Kerne durch Teilung die Kerne der Keimzone aus sich entstehen, sie wären also Elemente der »Keimbahn«, oder aber gehören sie zu den mesodermalen Gewebselementen, welche die äußere Hülle des Ovars bilden und mit der »Keimbahn« nichts zu tun haben. Ich möchte mich für die zweite Deutung entscheiden. Zu ihrem Gunsten scheint mir zu sprechen, daß die »Apikalzellen« immer sehr weit von den Kernen des Keimpolsters entfernt sind, daß ich niemals eine solche Zelle

in Teilung gefunden habe und daß sie sich in ihrem Aussehen und in ihrer Größe von Kernen, die sicher jugendlichem mesodermalen Gewebe angehören, nur durch ihre genau fixierte Lage am Ende des Ovarschenkels unterscheiden.

Die beiden Oviduktschenkel gehen bekanntlich bei den Copepoden an der breitesten Stelle des Ovars in der Nähe des oberen Schlundganglions ab und ziehen nach hinten zu den Geschlechtsöffnungen. Werden viele Eier gebildet, so sind die Oviduktschenkel mannigfach ausgesackt (*Diaptomus castor* z. B.), werden aber nur wenige Eier produziert, so sind die Oviduktschenkel einfache Schläuche (*Canthocamptus staphylinus* z. B.). Der hintere Teil der Ovidukte, die Endabschnitte, haben drüsige Wandungen und liefern das Sekret zur Bildung der Eisäcke. Daß auch das Receptaculum seminis bei den Cyclopiden als »Kittdrüse« funktioniert, wie CLAUS (1893) den Angaben GRUBERS (1878, 1879) gegenüber behauptet, ist meinen Beobachtungen nach nicht wahrscheinlich.

Dotterbildung.

Die Oogonien sowie die Oocyten der Synapsis und der frühen Wachstumsperiode haben meist keine deutlichen Zellgrenzen, sondern bilden eine Art von Syncytium. (vgl. HÄCKER, 1895, S. 205). Erst beim Übertritt der Oocyten in die Ovidukte umgibt sich jeder Kern mit einem entsprechenden Plasmaterritorium.

Das Zellplasma der Oogonien und der Oocyten der Synapsis ist ganz homogen und färbt sich nur schwach mit Hämatoxylin, Safranin usw. Dies ändert sich bald nach dem Beginn der Wachstumsperiode. Jetzt ist das Plasma durch eine Menge feiner Granula getrübt und färbt sich immer intensiver mit Hämatoxylin, Safranin usw. Da bei meinem Objekte keine bestimmten Beobachtungen gemacht werden konnten, die auf ein Austreten von Kernsubstanzen in das Plasma hinweisen, so ist die Herkunft dieser Granula in Dunkel gehüllt. Die Dunkelfärbung des Plasmas, die möglicherweise nur auf einer Tinktion der kleinsten Granula beruht, hat in der Mitte des Ovars ihren Höhepunkt erreicht. Nunmehr beginnen die feinen Körnchen zu wachsen, und man sieht, daß es kleine, mit hellem Inhalt gefüllte Bläschen sind. Je mehr diese Bläschen, die späteren Dotterbläschen, an Zahl und Größe zunehmen, desto mehr entfärbt sich auch das Plasma. Das stärkste Wachstum der Dotterbläschen beginnt in den meisten Fällen erst, wenn die Oocyten in die Ovidukte übertreten, also wenn sich um die einzelnen Kerne gesonderte Plasmaterritorien abgrenzen. Deshalb sind auch HÄCKER (1895b) und LERAT (1905) zu dem Schluß ge-

kommen, daß die Dotterbildung plötzlich und unvermittelt einsetzt, wenn die Oocyten in die Ovidukte eingetreten sind und in die Nähe der Mitteldarmwand gelangen. Es unterliegt auch für mich keinem Zweifel, daß die unmittelbare Nähe der nahrungspendenden Quelle den Verlauf der Dotterbildung beschleunigt, aber die einleitenden Phasen liegen weiter zurück. Zuerst traten als Vorstufen der Dotterkörner feinste Granula bzw. winzige Dotterbläschen auf. Aus diesen gehen dann durch Wachstum die Dotterkörner hervor. Zu ähnlichen Resultaten sind bei andern

Textfig. 4.



Textfig. 5.

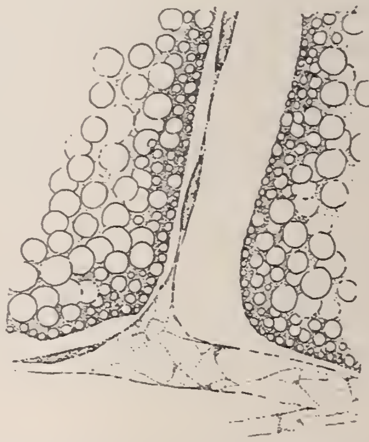


Fig. 4. Dotterbildung in der Plasmazone, die das Keimbläschen umgibt. *Diaptomus salinus.*

Fig. 5. Dotterbildung in der Plasmazone, die die Oberfläche des Eis bildet. Zwei aneinanderstoßende Oviduktеier von *Diaptomus salinus.*

Objekten neuerdings Bluntschli (1904), van der Stricht (1904—1907), D'Hollander (1904), Lams (1907), Popoff (1907a) gekommen.

Bald nach dem Übertritt in die Ovidukte und längere Zeit vor der Eiablage hat bei den meisten Copepoden das Wachstum der Dotterkörner sein Ende erreicht. Sie sind in so dichten Mengen vorhanden, daß das Eisplasma nur noch in Form dünner Wände und kleiner Zwickel zwischen ihnen zu Tage tritt. Nur im unmittelbaren Umkreis des Kerns und an der ganzen Außenfläche des Eis ist noch eine stärkere Anhäufung von Plasma zu bemerken. Hier schießen auch noch ständig neue Dotterbläschen an, auch wenn die Hauptdotterbildung längst zum Abschluß gekommen ist (Textfig. 4 u. 5).

Ein dritter Dotterbildungsherd ist zu bemerken, wenn das Keimbläschen sich auflöst, die »biseriale Anordnung« sich bildet und das »se-

kundäre« Keimbläschen in die Höhe steigt. Je auffallender der Größenunterschied zwischen dem sich auflösenden »primären« Keimbläschen und dem neu sich bildenden »sekundären« Keimbläschen ist, also je mehr »Kernsaft« bei der Auflösung sich mit dem spärlichen Zellplasma mischt, desto deutlicher ist dann der in Frage stehende Prozeß. Besonders schön konnte der betreffende Vorgang bei *Diaptomus salinus* beobachtet werden, und zwar konnte ich im einzelnen folgendes feststellen: Nachdem die Kernmembran des »primären« Keimbläschens (Fig. 65) sich aufgelöst hat, ist eine große Plasmainsel entstanden, in deren Mitte die Chromosomen gelagert sind (Fig. 66; vgl. auch Fig. 40). Inmitten dieses Raumes bildet sich das »sekundäre« Keimbläschen (Fig. 57) und steigt an die Eioberfläche (Fig. 67). Hinter sich läßt es eine breite Plasmastraße, in der sich stark färbbare Brocken, die Reste des zerfallenen Nucleolus, befinden. In den peripheren Teilen dieser Plasmastraße treten kleine Dotterkörnchen und -bläschen auf, ähnlich wie in den ersten Phasen der Hauptdotterbildung und später im nächsten Umkreis des Kerns und in den peripheren Teilen des Eiplasmas. Ich möchte glauben, daß es sich hier um einen nachträglichen, von dem Kernsaft des »primären« Keimbläschens ausgehenden Dotterbildungsprozeß und nicht etwa um eine Auflösung oder Zertrümmerung der großen Dotterschollen handelt.

Zur Kenntnis der Eiablage von Heterocope.

Nach Schmeil (1896) kommen in Deutschland drei *Heterocope*-Spezies vor: *Heterocope weismanni*, *saliens*, *appendiculata*. Über den Vorgang der Eiablage und über die Embryonalentwicklung dieser seltenen Formen ist nichts Sicheres bekannt. Sars[1]) sah aus der Genitalöffnung eines ♀, das er unter dem Deckglas mit dem Mikroskop beobachtete, Eier austreten, die sich zu einem kleinen Ballen vereinigten, der aber durch die gewaltsamen Bewegungen des Tieres wieder zerstört wurde. Schmeil möchte daraus schließen, daß die *Heterocope*-Spezies während des Schwimmens tatsächlich Eiballen bilden, wie andere Centropagiden. Wolf (1905) hat bei *Heterocope weismanni*, die er abends isolierte, am andern Morgen auf dem Boden des Gefäßes einzelne Eier gefunden. Er glaubt deshalb, daß *Heterocope weismanni* die Eier einzeln ablegt. Gräter (1903) und Scheffelt (1908), welche unter anderm auch die Eiablage von *Heterocope* kurz erwähnen, haben eine Eiablage von *Heterocope* wohl

---

[1]) Aus Schmeil (1896) entnommen, da mir die Arbeit von Sars nicht zugänglich war.

nicht beobachtet. Scheffelt (1908, S. 126) sagt allerdings: »Die Eier werden jedenfalls einzeln abgelegt und vereinigen sich nie zu Eisäcken.«

Ich habe nun versucht, über diese Verhältnisse einige Klarheit zu schaffen.

Heterocope weismanni wurde am Bodensee, *Heterocope saliens* am Titisee im badischen Schwarzwald und eine Lokalvarietät von *Heterocope saliens*[1]) an dem etwa 3 Stunden entfernten Feldsee beobachtet. Über die dabei angewandte Technik vgl. S. 40[2]).

Die Lebensweise von *Heterocope weismanni* ist schon von mehreren Seiten untersucht worden (Weismann 1876, Gruber 1878 u. a.). Sie erscheint, wie auch meine Beobachtungen ergeben haben, im Juli und August und verschwindet im Dezember und Januar vollständig. Bei Tag hält sie sich in größerer Tiefe auf, so daß man sie erst in Planktonfängen von 15—20 m Tiefe häufiger findet. Nachts steigt sie zur Wasseroberfläche empor. Ich habe deshalb immer nachts 11—1^h gefischt, und zwar jenseits der »Halde« bei Friedrichshafen, also im tiefen Wasser.

Heterocope saliens untersuchte ich am Titisee im badischen Schwarzwald. Sie tritt hier, wie schon Häcker (1901) beobachtete, vom Juni bis November auf. Ganz im Gegensatz zu *Heterocope weismanni* findet man sie bei Sonnenschein und ruhigem Wasser in den oberflächlichen Schichten des Wassers sehr häufig. Gegen den Nachmittag nimmt die Zahl der Tiere ab, und mit Einbruch der Dunkelheit verschwindet *Heterocope saliens* von der Wasseroberfläche, um jedenfalls in tiefere Schichten hinabzusteigen. Schon bei Tageseinbruch findet man wieder Heterocopen an der Oberfläche, bis ihre Zahl in den späten Vormittagsstunden ihr Maximum erreicht. Über die Ursache der vertikalen Wanderungen kann ich keine Angaben machen. Jedenfalls ist die *Heterocope saliens* des Titisees nicht empfindlich gegen zu starke Bestrahlung. Sie pflegte sogar

---

[1]) Die Angabe Gräters (1903) und Scheffelts (1908), daß die *Heterocope* des Feldsees *Heterocope appendiculata* sei, ist irrtümlich. Die Bestimmung nach Schmeil (1896) hat ergeben, daß die *Heterocope* des Titi- und Feldsees *Heterocope saliens* ist. Gewisser Eigentümlichkeiten wegen, geringere Größe, andre Färbung, Eiablage (vgl. S. 24), möchte ich die *Heterocope* des Feldsees als eine Lokalvarietät von *Heterocope saliens* (*H. s. Hercyniae*) bezeichnen.

[2]) Ich habe auch lebende Heterocopen nach Hause bringen und dort Eiablagen beobachten können, trotzdem die Tiere eine etwa 8 stündige Eisenbahnfahrt ertragen mußten, während es Scheffelt (1908, S. 104) nie gelang, größere Mengen lebender Tiere nach dem nahen Freiburg zu bringen. In einfachen Aquarien habe ich die Tiere über 14 Tage am Leben erhalten können. Leider ist es mir aber nie gelungen, die Vorgänge bei der Kopulation, die auch noch unbekannt sind, zu beobachten.

ebenso wie die Nauplien von *Cyclops strenuus* stets die hellste Ecke des Beobachtungsgefäßes aufzusuchen.

Heftige Regengüsse treiben *Heterocope saliens* in die Tiefe. Die Nachwirkung eines ausgiebigen Regens erstreckte sich auf mehrere Tage.

Eine Lokalvarietät von *Heterocope saliens* (*H. saliens Hercyniae*) fand ich im Feldsee (vgl. S. 48, Anmerkung). Sie findet sich dort von Juli bis November in großer Zahl. An Antennen und Schwimmfüßen ist sie ähnlich wie *Heterocope weismanni* lebhaft blau gefärbt, während die Titisee-Form wie ein *Diaptomus castor* tief braunrot gefärbt ist. Insbesondere schimmern die Ovidukte in tiefbrauner Farbe hindurch. Die Titisee-Form von *Heterocope saliens* ist ziemlich größer als die Feldsee-Form.

In bezug auf die Eiablage dieser Formen konnte ich folgendes unter der Lupe beobachten:

Die zur Eiablage bereiten Tiere liegen unbeweglich am Grund des Gefäßes oder hängen an der Oberfläche des Wassers. Ihre Ovidukte sind mannigfach ausgesackt und prall angefüllt mit Eiern. Dann gerät der dunkle Inhalt der Ovidukte in fließende Bewegung. Wie die Perlen einer Perlenschnur rollen die Eier in ununterbrochenem Strom dahin, um dann nach außen zu gelangen. Wenn keine Störung eintritt, nimmt der Vorgang der Eiablage nicht mehr als eine Minute in Anspruch. Beim Austreten werden die Eier befruchtet. Ich habe bei *Heterocope* wie auch bei den andern Copepoden immer nur ein Spermatosoma in das Ei eindringen sehen, obwohl überzählige Spermatosomen da und dort noch außerhalb der Eier zu finden sind. Bei *Heterocope* sowie bei *Diaptomus* und *Canthocamptus* sind die Spermatosomen rundlich, während sie bei *Cyclops* stäbchen- bis pfriemenförmig sind.

Die Eier fallen bei *Heterocope weismanni* sofort nach dem Austreten einzeln oder in Gruppen zu zwei und drei vereint zu Boden, und zwar werden bei jeder Eiablage vier bis sechs Eier abgelegt. Sie sind sehr klebrig und hängen sich an andre Gegenstände an. Anfangs haben die Eier eine unregelmäßig-ovoide Gestalt, runden sich aber nach und nach ab. Ihre Größe ist im Durchschnitt 0,2 mm. Die ♀ ♀ sind nach der Eiablage ganz durchsichtig und scheinen ziemlich erschöpft zu sein.

Heterocope saliens hat einen andern Modus der Eiablage, und zwar unterscheidet sich die Titisee-Form von der Feldsee-Form. Bei beiden werden sämtliche Eier eines Satzes beim Austreten aus den Ovidukten von einer gallertartigen Masse umhüllt, die von den drüsigen Endabschnitten der Eileiter geliefert wird. Diese Gallerte rundet sich im Wasser ab und quillt beträchtlich auf. Die Gallertkugeln der Titisee-Form haben einen Durchmesser von 2—3 mm, die der Feldsee-Form einen solchen von etwa

1 mm. Die Gallerte ist anfänglich sehr klebrig und umgibt sich mit einem Hof von allerlei Schmutzteilchen. Infolge dieser Klebrigkeit kommt es auch vor, daß die Gallertkugel nicht sofort zu Boden fällt, sondern einige Minuten an den Borsten der Furka hängenbleibt. Nie habe ich gesehen, daß ein solcher Eiballen an der Geschlechtsöffnung selbst hängengeblieben wäre.

Bei der Titisee-Form von *Heterocope saliens* ist die Eizahl schwankend, bei der Feldsee-Form nahezu konstant. Erstere legt 10—26 Eier von 0,17 mm Durchmesser auf einmal ab, letztere nur zehn bis zwölf Eier von 0,18 mm Durchmesser. Auch hier sind die Eier anfangs ovoid, runden sich aber bald ab. Der Kern (das »sekundäre« Keimbläschen) hebt sich als heller Fleck deutlich von der dunkleren Dottermasse ab, und man kann unter dem Mikroskop die Bildung der Richtungskörper und die Furchung sehr schön verfolgen. Wie bei *Canthocamptus* nimmt auch bei *Heterocope* die Richtungskörperbildung längere Zeit in Anspruch (etwa 4 Stunden) als bei *Diaptomus* und *Cyclops* (etwa 1 Stunde). Die Entwicklung des Eis scheint mit der Bildung eines Dauerstadiums, wie es Häcker (1901) für *Diaptomus denticornis* beschrieben hat, abzuschließen.

Das feine Plasmahäutchen, welches gleich nach der Eiablage das Ei umschließt, hat sich inzwischen erhärtet und zu einer dicken geschichteten Hülle umgewandelt, welche nach innen kontinuierlich in die Dotter- und Plasmamassen des Eis übergeht und den Konservierungsflüssigkeiten sowie auch dem Mikrotommesser großen Widerstand entgegensetzt. Selbst bei Anwendung von heißem Sublimat-Alkohol läßt das charakteristische Zeichen der vollzogenen Konservierung, der charakteristische Farbenumschlag des Eis von Dunkelblau oder Dunkelbraun in Rot, einige Zeit auf sich warten, lauter Zeichen für die Dichte der Eimembran. Das Ei ist also wohl imstande, längere Zeit im Wasser zu flottieren oder am Grund des Sees zu liegen, ohne daß es Schaden leidet. Ob die gemeinsame Gallerthülle den Eiern von *Heterocope saliens* längere Zeit Schutz gewährt, halte ich für zweifelhaft. Ich konnte nämlich bemerken, daß schon nach 1—2 Tagen die Gallerthülle sich lockert oder gar zerfließt, so daß die Eier herausfallen und wie die Eier von *Heterocope weismanni* nun auf den Schutz angewiesen sind, welchen ihnen ihre dichte Eimembran gewährt.

Kerngeschichtliche Verhältnisse.

Terminologie.

Seit den grundlegenden Arbeiten von van Beneden, Boveri und O. Hertwig pflegt man die Oogenese einzuteilen in eine Teilungs- oder Vermehrungsperiode, eine Wachstumsperiode und eine Reifungsperiode.

Neuerdings scheint aber das Bestreben dahin zu gehen, Wachstums- und Reifungsperiode unter sich näher zusammenzufassen. So haben FARMER und MOORE (1895) für beide Perioden zusammen den Ausdruck »maiosis« vorgeschlagen. A. und E. SCHREINER (1907) fassen Wachstums- und Reifungsphase unter dem alten Namen — Reifungsperiode — zusammen.

Auch ich habe mich im Lauf meiner Untersuchungen davon überzeugt, daß es angezeigt ist, Wachstums- und Reifungsphase näher zusammenzufassen. Um die ohnehin sehr verwickelte Nomenklatur nicht um eine neue Bezeichnung zu vermehren, möchte ich wie A. und E. SCHREINER für den ganzen Zeitraum von der auf die letzte oogoniale Teilung folgenden Ruheperiode bis zum Abschluß der Reifungsteilungen die Bezeichnung — Reifungsperiode — verwenden. Wie aus meinen späteren Ausführungen hervorgehen wird, sind es aber ganz andre Erwägungen als die des Autorenpaares SCHREINER, welche mich dazu bewogen haben.

Demnach wäre die Einteilung der Oogenese folgende:

A. Die Vermehrungsperiode (Teilungszone, Keimzone). Sie umfaßt alle oogonialen Teilungen und schließt mit einem ausgesprochenen Kernruhestadium ab.

B. Die Reifungsperiode. Sie umfaßt das Schicksal der Oocyten von dem auf die letzte oogoniale Teilung folgenden Ruhestadium bis zum Abschluß der zweiten Reifungsteilung und zerfällt in drei Hauptphasen:

I. Die Synapsis[1]), d. h. die Zeit unmittelbar vor, während und nach der bekannten einseitigen Kontraktion des Chromatinknäuels.

II. Die Wachstumsphase.

1. frühe Diakinese. } (HÄCKER 1897).
2. späte Diakinese }

Zuweilen kann zwischen frühe und späte Diakinese, wo die Chromosomen lose im Kern verteilt sind, eine Art Ruhestadium eingeschoben sein.

Ein vermittelndes Stadium zwischen später Diakinese und den Reifungsteilungen ist

3. Die »biseriale« Anordnung (HÄCKER 1904). Sie hat den Charakter einer »Bereitschaftsstellung« (HÄCKER 1904), insofern sie solange andauert, bis die Eier austreten und gleichzeitig befruchtet werden.

---

[1]) Bezüglich der Anwendung des Ausdrucks Synapsis vgl. HÄCKER, 1907, S. 72.

III. Die Reifungsteilungen. Sie erfolgen stets, entgegen den Angaben LERATS (vgl. BRAUN 1907, MATSCHECK 1909), im abgelegten Ei.

Eine Reihe technischer Ausdrücke wird im Text noch seine Erklärung finden. Ich möchte noch darauf hinweisen, daß ich unter »Chromosom« jede zusammenhängende Chromatinmenge verstehe, die in die Teilung eingeht. Unter »Chromatin« sei lediglich die »färbbare Substanz« gemeint, d. h. der Teil des Kerns, der sich bei Anwendung von Kernfarbstoffen, insbes. Hämatoxylin, intensiv färbt.

Einen ganz sicheren Ausgangspunkt für die vergleichende Betrachtung der Reifungsvorgänge bildet bei den Copepoden die biseriale Anordnung, weshalb ich über diese Phase einige Worte vorausschicken muß.

Biseriale Anordnung.

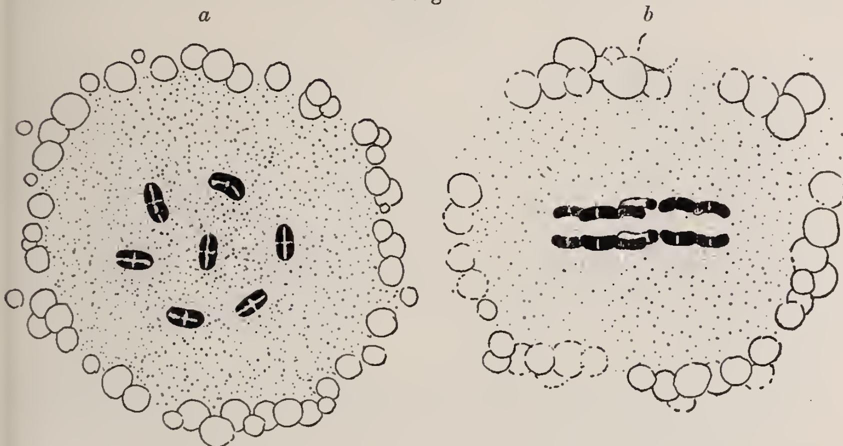
a) Morphologische Verhältnisse der Chromosomen.

Bei der Betrachtung der kerngeschichtlichen Verhältnisse möchte ich von dem Stadium der »biserialen Anordnung« ausgehen. Wie schon S. 37 erwähnt wurde, ist dies jene Phase der ersten Reifungsteilung (Metaphase I), während welcher die Eier aus den Ovidukten austreten und gleichzeitig befruchtet werden.

Der äußere Anblick, den die biseriale Anordnung bei den Copepoden bietet, ist ein sehr verschiedener, wie schon aus den Untersuchungen früherer Autoren hervorgeht. Es sei an die Bilder erinnert, welche HÄCKER von *Cyclops viridis* gegeben hat (1895c, 1902), an die Beobachtungen RÜCKERTS (1894a) bei einigen Bodenseecopepoden, an die Untersuchungen von VOM RATH (1892, 1895) bei marinen Centropagiden, an die von HÄCKER (1892, 1895b) geschilderten scheinbar ganz abweichenden Befunde bei *Canthocamptus* und an die neueren Beobachtungen von LERAT (1905) und BRAUN (1907). Wie HÄCKER (1895c, 1902) bei *Cyclops viridis* gezeigt hat, sind bei den Cyclopiden die Chromosomen der biserialen Anordnung längsgespaltene, quergekerbte Stäbchen, die in zwei Ebenen so angeordnet sind, daß sich je zwei Stäbchen gegenüberstehen, und zwar so, daß der Längsspalt nur in Pol-, nicht aber in Seitenansicht zu sehen ist (Textfig. 1, 6). HÄCKER hat (1907, S. 111) die Stäbchen selbst Syndeten (vgl. HÄCKER 1904, S. 200 »Syndesis«), die Stäbchenpaare Syndetenpaare genannt. Letztere habe ich (1909, S. 43) Ditetraden oder auch Doppelstäbchen genannt, und ich will diese Bezeichnung auch hier beibehalten. Im Gegensatz zu *Cyclops* liefern unsre einheimischen Centropagiden andre Bilder. Bei *Diaptomus* haben wir in der biserialen Anordnung kleine vierteilige Ringe in großer Zahl (Fig. 57, 58, 87—90). (Vgl. auch Verh. d. Zool. Ges.

1908, S. 112, Fig. 4—7.) Während *Heterocope saliens* vom Titisee ähnliche Ringe, nur entsprechend größer zeigt, (Fig. 109), haben *Heterocope saliens*

Textfig. 6.



a Biseriale Anordnung von *Cyclops fuscus* von oben. Sieben Ditetraden.
b Biseriale Anordnung von *Cyclops fuscus* von der Seite.

vom Feldsee und *Heterocope weismanni* vom Bodensee Viererkugeln (Textfig. 20), (vgl. Verh. d. Zool. Ges. 1908, S. 112, Fig. 2), die an Bilder erinnern, welche vom Rath (1895) bei marinen Copepoden gefunden hat.

Textfig. 7. Textfig. 8.

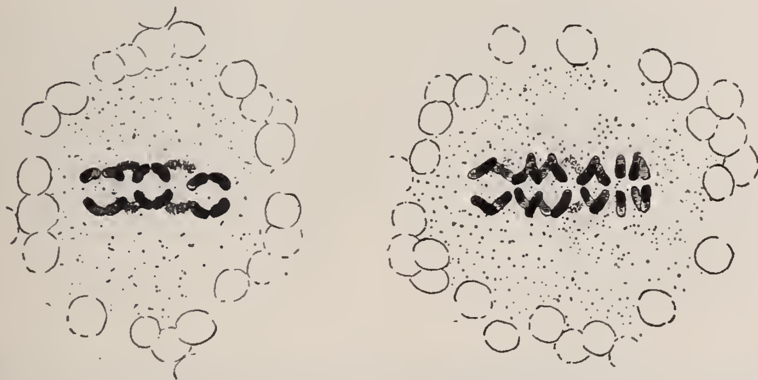
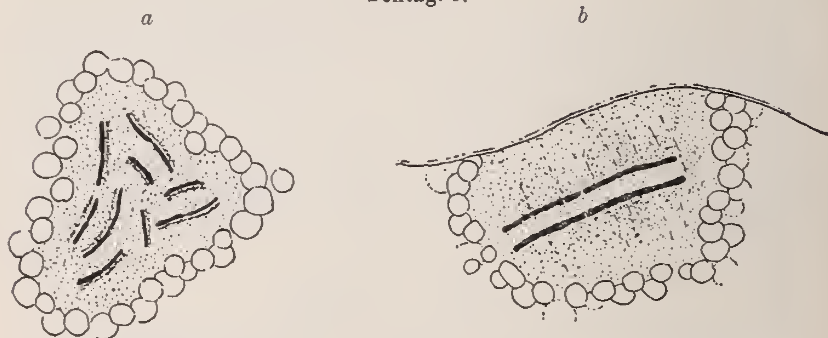


Fig. 7. Biseriale Anordnung von *Cyclops fuscus* var. *distinctus* von der Seite. Einzelstäbchen des Doppelstäbchens (Ditetrade) ringförmig zusammengebogen.
Fig. 8. Biseriale Anordnung von *C. strenuus* von der Seite. Ringähnliche Ditetraden.

Wie lassen sich diese äußerlich so verschiedenen Bilder von *Cyclops*, *Diaptomus* und *Heterocope* miteinander vereinigen?

Für die Beantwortung dieser Frage sind einige Funde bei *Cyclops* wichtig. Man findet nämlich neben typischen längsgespaltenen, quergekerbten Doppelstäbchen (s. Fig. 9, 41, Textfig. 6) auch solche, bei welchen

Textfig. 9.



a Biseriale Anordnnng von *Cyclops bicuspidatus* von oben. Neun Ditetraden in heterochrone Entwicklung. *b* Biseriale Anordnung von *C. bicuspidatus* von der Seite. Plattenbildung.

die beiden längsgespaltenen Einzelstäbchen eines Doppelstäbchens so gegeneinander gekrümmt sind, daß sie beinahe zu einer Art von Ring zusammenschließen. Auch hier ist der Längsspalt nur in Polansicht, nicht aber in der Seitenansicht zu sehen. Hierher gehört besonders *Cyclops*

Textfig. 10.

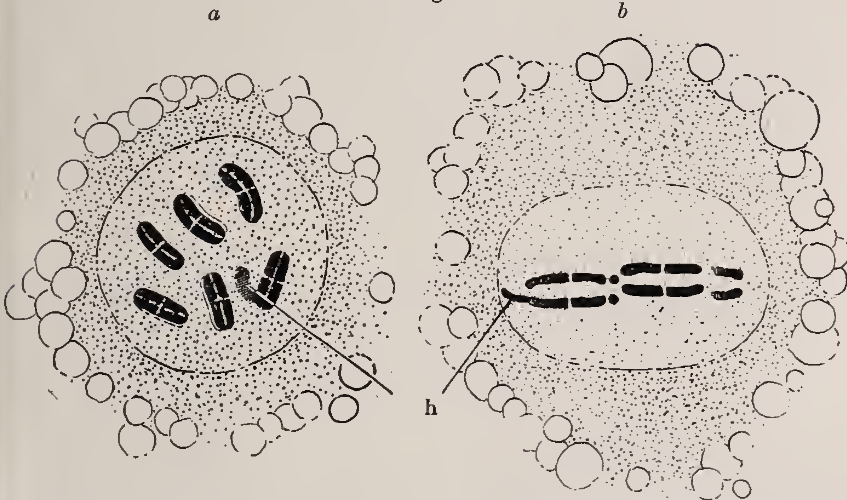


a Biseriale Anordnung von *Cyclops fuscus* var. *distinctus* von oben. Fünf Ditetraden und ein Heterochromosom (*h*). *b* Biseriale Anordnung *C. fuscus* var. *distinctus* halbseitlich. Am Heterochromosom ein Längsspalt sichtbar. Nicht alle Ditetraden gezeichnet.

fuscus var. *distinctus* (Textfig. 7), dann auch *Cyclops strenuus* (Textfig. 8), *Cyclops phaleratus* und *Cyclops affinis*. Andrerseits findet man bei *Diaptomus salinus* in der Diakinese neben Ringen typische Doppelstäbchen

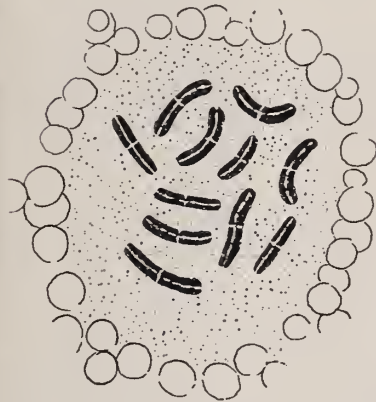
(Fig. 63), und auch in der biserialen Anordnung sind die Chromosomen charakteristische Doppelstäbchen (Fig. 68), die ganz denen von *Cyclops*

Textfig. 11.



a Biseriale Anordnnng von *Cyclops fuscus* var. *distinctus* von oben. Sechs Ditetraden und ein Heterochromosom (*h*). *b* Biseriale Anordnnng von *C. fuscus* var. *distinctus* von der Seite mit Heterochromosom (*h*).

Textfig. 12.



Textfig. 13*a*.

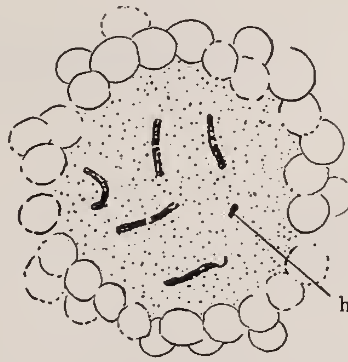


Fig. 12. Biseriale Anordnnng von *Cyclops insignis* von oben. Elf Ditetraden, znm Teil in heterochroner Entwicklnng. Nnr die eine Tetradenplatte ist sichtbar.

Fig. 13*a*. Biseriale Anordnung von *Cyclops vernalis* von oben. Nnr die obere Tetradenplatte gezeichnet. Fünf Ditetraden nnd ein Heterochromosom (*h*). Eine Ditetrade ist in ein Schwänzchen ausgezogen.

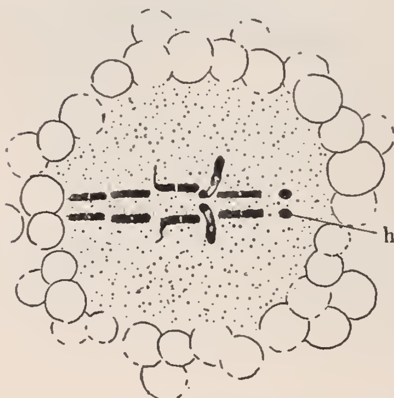
gleichen. Besonders wenn man die Ringe von *Diaptomus* von oben zu sehen bekommt (Fig. 58b; vgl. hierzu auch Fig. 89b), ist die Homologie

mit den Doppelstäbchen von *Cyclops* auffällig genug, so daß sie nicht übersehen werden kann, denn bei Polansicht tritt auch der Längsspalt hervor.

Die Doppelstäbchen von *Cyclops* und die Ringe von *Diaptomus* sowie die Ringe und Viererkugeln von *Heterocope* sind also dem Prinzip nach übereinstimmend gebaut (s. Textfig. 16) und durch Übergänge kontinuierlich verbunden; es sind »Tetraden« oder besser gesagt »Ditetraden«.

Was nun die Harpacticiden betrifft, so lösen sich die Platten, welche Häcker (1892) bei *Canthocamptus staphylinus* beobachtete und die man in

Textfig. 13*b*.



Textfig. 14.

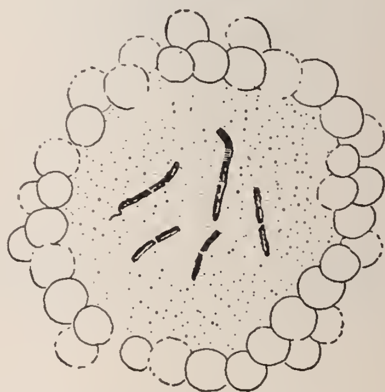


Fig. 13*b*. Biseriale Anordnung von *Cyclops vernalis* von der Seite. Heterochromosom (*h*) und fünf Ditetraden. Eine von diesen in ein Schwänzchen ausgezogen.

Fig. 14. Biseriale Anordnung von *Cyclops vernalis* von oben. Nur die obere Tetradenplatte gezeichnet. Fünf Tetraden zum Teil in heterochroner Entwicklung. Eine Ditetrade ist in ein Schwänzchen ausgezogen.

dem zum Austritt fertigen und eben ausgetretenen Ei findet — sie entsprechen somit der biserialen Anordnung bei den Cyclopiden —, bei bestimmten Färbungsmethoden (Bismarckbraun-Hämatoxylin, vgl. S. 41) je in 12 sehr deutlich längsgespaltene, quergekerbte, dicht aneinandergepackte Einzelstäbchen auf, welche paarweise opponiert sind und also auch Doppelstäbchen (Ditetraden) bilden (Fig. 47). Mit diesen Bildern von *Canthocamptus* stimmen in bezug auf die gestreckte Gestalt der Chromosomen und das Aussehen der biserialen Anordnung von der Seite *Cyclops dybowskii* und *Cyclops bicuspidatus* (die var. *odessana* inbegriffen) überein (Textfig. 9a u. b), während *Cyclops phaleratus* und wohl auch seine Verwandten mit *Canthocamptus* bezüglich des Verlaufs der Reifungsteilungen (vgl. S. 91) übereinstimmen.

b) Zahlenverhältnisse der Chromosomen.

Die Feststellung der spezifischen Chromosomenzahlen geschieht am besten in der biserialen Anordnung. Ich werde immer die Anzahl der Ditetraden angeben. Solche Chromosomen, welche durch ihre besondere Form, ihr tinktionelles Verhalten usw. sich auszeichnen, also Heterochromosomen sind — vgl. Montgomery (1901), Korschelt und Heider (1903, S. 599), Gutherz (1906), Wilson (1900), Häcker (1907, S. 45) —, sollen mit »h« bezeichnet werden.

Genus *Cyclops*.

Die »spezifischen Chromosomenzahlen« von *Cyclops* hat Braun (1907 u. 1909) zum Gegenstand einer eingehenden Untersuchung gemacht. Ich kann seine Ergebnisse bestätigen und z. T. erweitern. Es stehen nunmehr folgende spezifische Chromosomenzahlen fest[1]).

Cyclops fuscus	7 (Textfig. 6a) B., M.
Cyclops albidus	7 B., M.
Cyclops fuscus var. *distinctus* (Bastard? *fuscus-albidus*)	5 + 1 »h« (6 + 1 »h«) B., M. (M.) (Textfig. 10 u. 11).
Cyclops serrulatus	6 + 2 »h« B., M.
Cyclops prasinus	5 + 1 »h« B., M.
Cyclops phaleratus	6 + 1 »h« (Fig. 41a) M.
Cyclops affinis	6 + 1 »h« M.
Cyclops strenuus	11 B., M.
Cyclops insignis	11 (Textfig. 12) B., M.
Cyclops Leuckarti	7 B., M.
Cyclops Dybowskii	9 B., M.
Cyclops bicuspidatus	9 B., M.
Cyclops bicuspidatus var. *odessana*	9 (Textfig. 9a) B., M.
Cyclops vernalis	5; 5 + 1 »h« (Textfig. 13 u. 14) B., M.
Cyclops viridis	6 (Textfig. 24) B., M.
Cyclops gracilis	3 (Fig. 9) B., M.

---

[1]) B. = Braun, M. = Matscheck.

Genus *Canthocamptus.*

Canthocamptus staphylinus . . . . . 12 (Fig. 47a) M.
Ich kann somit die alte Angabe Häckers (1895b) bestätigen.

Genus *Diaptomus.*

Diaptomus denticornis . . . . 17 M.
Diaptomus salinus . . . . 17 (Fig. 68b) M.
Diaptomus gracilis . . . . 17 (Verh. d. Zool. Ges. 1908) S. 112, Fig. 7). M.

(Rückert (1894a) fand bei dem *Diaptomus gracilis* des Bodensees 16 Ditetraden, ich konnte aber bei Individuen von andern Fundorten mit aller Sicherheit 17 feststellen).

Diaptomus castor . . . . 14 + 1 »h« (Ring) (Verh. d. Zool. Ges. 1908, S. 112, Fig. 5 bis 6) (Fig. 88—90) M.
Diaptomus laciniatus . . . . 16 (Fig. 58b) M.
Diaptomus coeruleus . . . . 14 (Verh. d. Zool. Ges. 1908, S. 112, Fig. 4) M.

Genus *Heterocope.*

Heterocope weismanni . . . . 16 (Verh. d. Zool. Ges. 1908, S. 112, Fig. 2) M. (Textfig. 20)
Heterocope saliens . . . . 16 (Fig. 109) M.

(Bezüglich der *Heterocope weismanni* kann ich die Zahlenangabe Rückerts [1894a] bestätigen.)

Die Vermehrungsperiode (Teilungs- oder Keimzone).

Das leicht umgebogene Ende des Ovars ist, wie schon früher erwähnt wurde, bei allen untersuchten Copepoden von einer wechselnden Zahl kleiner Kerne ausgefüllt, deren zugehörige Zellterritorien meist nicht deutlich erkennbar sind. Infolge ihres Chromatinreichtums färben sich die Kerne sehr intensiv, und ich konnte mir deshalb keine rechte Vorstellung über die Verteilung des Chromatins in den Kernen machen. Es wird wohl in den meisten Fällen ein Ruhestadium mit Nucleolus sein.

Ihren Eigenschaften und ihrer Lage nach entsprechen diese Kerne sicher dem »Keimpolster«, das Häcker (1895b) bei *Canthocamptus staphylinus* beschrieben hat, und ähnlichen Kernen, welche Lerat (1905) bei *Cyclops strenuus* fand.

Welche Bedeutung hat dieses Keimpolster?

Häcker hält die Kerne für Abkömmlinge der Urgenitalzellen des Embryos, also für Ureizellen, die auf Grund periodischer Teilungen aus sich die Elemente des Ovariums entstehen lassen. Ich selbst habe bei Tieren, welche erst etwa $^1/_5$ der definitiven Körpergröße erreicht hatten, bei denen das Ovar erst mäßig mit Kernen gefüllt war, vereinzelte Mitosen im Keimpolster gesehen. Genaueres über die Zahl der Chromosomen konnte ich nicht feststellen. Bei Tieren, die vor der ersten Eiablage standen, habe ich zwar in den allermeisten Fällen ein »Keimpolster« gefunden, aber Vermehrungsvorgänge scheinen nicht mehr vorzukommen. Alte Tiere, die vor der zweiten oder dritten Eiablage standen, hatten Ovarien ohne typisches Keimpolster.

Aus diesen Beobachtungen möchte ich schließen, daß das »Keimpolster« bei jüngeren Tieren in der Tat den eigentlichen Vermehrungsherd darstellt, daß aber bei älteren Tieren die Vermehrung hauptsächlich von den eigentlichen Oogonien ausgeht, so daß hier eine »sekundäre« Teilungszone auftreten kann. Vereinzelte Kernteilungen können allerdings auch noch bei älteren Tieren im »Keimpolster« vorkommen, doch gelangen sie relativ selten zur Beobachtung.

Vielleicht handelt es sich bei dem schon S. 43 erwähnten, in Fig. 32 abgebildeten Kern, der dem »blinden Ende« des Ovars von *Cyclops phaleratus* kappenförmig aufliegt und die späte Prophase aufweist, gerade um einen solchen noch spät sich teilenden Kern des Keimpolsters. Ich konnte sechs große Chromatinportionen und eine kleinere mit ziemlicher Sicherheit feststellen. Diese Chromosomenzahl würde also der Zahl der Elemente, welche man in der »biserialen Anordnung« und in der Äquatorialplatte der ersten Richtungsspindel findet, demnach der »reduzierten« Zahl der Autoren (s. S. 57), entsprechen.

An die kleinen, chromatinreichen Kerne des Keimpolsters schließt sich bei jungen Tieren eine breite Kernzone an, die auch Häcker (1895b) bei *Canthocamptus* fand und in welcher die Kerne alle ein typisches Ruhestadium zeigen. Das Chromatin ist in feinen Flittern, Körnern und Bröckchen überall im Kern verteilt. Dazu ist meist ein Nucleolus vorhanden.

Auf dieses breite Band von ruhenden Kernen folgt dann die eigentliche oogoniale Vermehrungszone. Sie ist bei jungen Tieren, die noch im Wachstum begriffen sind, sehr ausgedehnt. Bei alten Tieren dagegen, die schon

eine Eiablage hinter sich haben, können Vermehrungsvorgänge vollständig vermißt werden, so daß das ganze Ovar vom blinden Ende bis zum Stadium der synaptischen Kerne vollständig mit »ruhenden« Kernen ausgefüllt ist. Die Cyclopiden zeigen dieses Verhalten schärfer ausgeprägt als die Centropagiden und Harpacticiden.

Über den Verlauf der oogonialen Teilungen vermag ich nicht viel Neues zu sagen. Sie gleichen im ganzen den Mitosen, welche man da und dort in den Geweben der Copepoden, besonders im Darm, findet.

Es wäre von großem Interesse gewesen, durch eine hinreichende Zahl einwandfreier Zählungen die Zahl der Chromosomen in den oogonialen Teilungen festzustellen. Doch habe ich damit wenig Erfolg gehabt. Auch vom Rath, der diese Verhältnisse bei marinen Copepoden untersuchte, sagt (1895, S. 208): »So günstig die Copepoden für das Studium einiger Phasen der Eireifung, z. B. der Vierergruppenbildung sein mögen, so ungünstig sind sie gerade für die Periode der Teilungen der Ureier und der Ursamenzellen.« Ich kann mich diesen Worten nur anschließen. Bei *Diaptomus* und *Heterocope* erschwert schon die große Zahl der Chromosomen eine Zählung außerordentlich. Sodann sind in den Metaphasen und Anaphasen die Chromosomen so dicht aufeinandergepackt, daß sie in ihrer Gesamtheit von oben wie homogene Platten, von der Seite wie dunkle Bänder aussehen. Doch auch die Prophasen der oogonialen Teilungen sind für Zählungen wenig geeignet. Allerdings liegen zwischen den Teilungsstadien Kerne, welche distinkte Chromatinportionen deutlich erkennen lassen und sich im Zustand der Prophase befinden dürften. Bei schätzungsweisen Zählungen kommt man aber zu dem Resultat, daß die Anzahl der Chromatinportionen sehr wechselt. Sie entspricht bald mehr der »reduzierten« Zahl, bald der »Normalzahl«, bald kommen noch höhere Zahlen heraus, und dies dürfte damit zusammenhängen, daß die Chromatinportionen wohl noch keine eigentlichen Chromosomen, sondern »Prochromosomen« (Overton) sind.

Nicht viel günstiger liegen die Verhältnisse bei *Cyclops* und *Canthocamptus*. Die Chromosomenzahlen sind zwar nicht so groß wie bei *Diaptomus* und *Heterocope* (s. S. 57 u. 58), aber die Oogonien sind durchschnittlich kleiner, so daß auch die oogonialen Mitosen klein sind.

Lerat (1905) kommt bei seinem Objekt, *Cyclops strenuus*, das aber meiner Erfahrung nach nebst seinem Verwandten, *Cyclops insignis*, für Chromosomenzählungen unter den Cyclopiden das ungünstigste ist — der hohen Chromosomenzahl wegen —, zu dem Resultat, daß die oogonialen Teilungen die Normalzahl der Chromosomen aufweisen, also 22.

Ich selbst konnte in einem einzigen Falle an einem Dyaster einer

Oogonienteilung bei einem relativ viel günstigeren Objekt — *Cyclops fuscus* — die Zahl 7, also die »reduzierte« Zahl, feststellen (Textfig. 15).

Auch vom Rath (1895, S. 209) sagt: »Mindestens eine Generation der Ureizellen, und zwar die letzte, verläuft nach dem Schema der Mitosen mit doppelwertigen Chromosomen und scheinbar reduzierter Chromosomenzahl.« Dementsprechend findet vom Rath in den Mitosen der Mitteldarmkerne von *Anomalocera patersonii*, einem Meerescopepoden, 32 Elemente, bei der Teilung der Oogonien aber und in der biserialen Anordnung 16 Elemente, also die »reduzierte« Zahl.

Auf die »sekundäre« Teilungszone folgt eine Zone ruhender Kerne, wie auf die primäre Teilungszone, das Keimpolster, auch eine Lage ruhender Kerne folgte. Die ruhenden Kerne beider Zonen gleichen einander auch vollständig und zeigen, etwa wie ein ruhender Kern der Darmzellen, einen Nucleolus und das Chromatin in Fäden, Flittern, Körnern und Brocken im Kern verteilt.

Textfig. 15.



Dyaster einer oogonialen Teilung von *Cyclops fuscus*.

Rückert, Häcker und vom Rath hatten gefunden, daß nach der letzten oogonialen Teilung die Kerne aus dem Dispirem nicht in das Kernruhestadium zurückkehren, daß vielmehr die Chromosomen der Reifungsperiode sich direkt von diesem Dispirem herleiten lassen. Nun ist aber in letzter Zeit von einer großen Anzahl von Autoren gezeigt worden, daß zwischen die letzte Teilung der Ureizellen und die darauffolgenden synaptischen Stadien sich ein Ruhestadium der Kerne einschiebt. Auch Lerat (1905) hat bei *Cyclops strenuus* dieses Stadium gesehen, und wie aus meinen Untersuchungen hervorgeht, trifft dies auch für die andern Copepoden zu. Es kann also von einer Persistenz der Chromosomen der oogonialen Telophasen bis zu den Reifungsprophasen (Rückert 1892, 1894 b) nicht die Rede sein[1]).

Die Reifungsperiode.

Die Reifungsperiode umfaßt den ganzen Zeitraum von der auf die letzten oogonialen Teilungen folgenden Ruheperiode bis zum Abschluß der zweiten Reifungsteilung.

---

[1]) Speziell die Angabe von Häcker (1895), daß bei *Canthocamptus* die Chromosomen der Reifungsperiode sich direkt aus dem Dispirem der letzten oogonialen Teilung ableiten lassen, beruht auf einer Verwechslung der Synapsisknäuel mit den Dispiremen vgl. auch Waldeyer, 1901—1903, S. 235, Fig. 60).

I. Die Synapsis.

Seitdem von vielen Forschern angenommen wird, daß in der Synapsis eine Paarung der Chromosomen vor sich gehe (von Winiwarter 1900, Montgomery 1901), hat dieses Stadium sehr an Interesse gewonnen. Es hat sich auch Lerat (1905) in seiner Untersuchung über die Oogenese und Spermatogenese von *Cyclops strenuus* dafür ausgesprochen, daß eine parallele Konjugation der Chromosomen in der Synapsis anzunehmen sei.

Der gegenwärtigen Strömung Rechnung tragend, habe auch ich die synaptischen Stadien in der Oogenese der Copepoden einer genauen Untersuchung unterzogen.

Ein sehr dankbares Material hierzu sind die *Heterocope*-Arten sowie der große *Diaptomus castor*. Die Ovarien sind bei diesen Copepoden sehr groß und bergen eine außerordentliche Menge von Oocyten, so daß die Wahrscheinlichkeit, alle Stadien der Synapsis in lückenloser Serie zu erhalten hier viel größer ist als bei den kleineren Cyclopiden und Harpacticiden sowie bei den kleineren *Diaptomus*-Arten. Ich werde aus diesem Grunde auch bei der Beschreibung der Synapsis mich an diese günstigeren Verhältnisse halten. Der besseren Übersicht halber sei eine Präsynapsis, eine eigentliche Synapsis und eine Postsynapsis unterschieden.

1. Die Präsynapsis.

Die Bilder der Präsynapsis, welche von dem geschilderten Ruhestadium zu den Stadien der eigentlichen Synapsis mit einseitig im Kernraum zusammengezogenem Chromatinknäuel hinführen, gleichen sehr den einleitenden Phasen der gewöhnlichen Mitosen, welche man in somatischen Zellen und Furchungszellen bei den Copepoden findet.

Es ordnen sich nämlich die zerstreut im Kern liegenden Chromatinbrocken und -flitter zunächst zu kurzen, mit Zäckchen und Ausläufern besetzten Fäden an, die dann mehr und mehr Fühlung miteinander gewinnen und zuletzt einen zusammenhängenden, dünnen Faden zu bilden scheinen, der den ganzen Kernraum in äußerst vielen, für das Auge unentwirrbaren Windungen durchzieht (Fig. 69). Geradesogut können es aber Fadensegmente sein, welche das Bild eines zusammenhängenden Fadens nur vortäuschen. Eine Entscheidung dieser Frage ist bei meinen Objekten nicht möglich gewesen.

Stets ist in der Präsynapsis ein Nucleolus vorhanden. (Selten trifft man zwei oder drei.) Er zeigt meist in der Mitte eine große Vacuole oder mehrere kleine Vacuolen. Ich glaube, daß die präsynaptischen Kerne bei den Copepoden den *Noyaux deutobroques* bis *Noyaux leptotènes* Winiwarters entsprechen.

2. Die eigentliche Synapsis.

Im Unterschied zu dem feinfadigen Knäuel der Präsynapsis hat sich nun das gesamte Fadenwerk einseitig im Kernraum zusammengezogen, zeigt aber sonst keine bestimmte Orientierung. Jedoch darf man sich nicht vorstellen, daß alle Kerne, welche ein bestimmtes Entwicklungsstadium des präsynaptischen feinfadigen Knäuels erreicht haben, nun gerade von diesem bestimmten Stadium an die einseitige Verlagerung des Knäuels aufweisen müßten. Man findet vielmehr neben dünnfadigen Knäuelstadien, die sich schon einseitig zusammengezogen haben, relativ dickfadige Knäuel, welche noch keine Spur einer synaptischen Zusammendrängung ihrer Elemente erkennen lassen. Früher oder später verfällt aber offenbar jeder Kern in das eigentliche synaptische Stadium, so daß immer eine breite Zone des Ovars mit Kernen erfüllt ist, die den einseitig zusammengezogenen Knäuel in sehr typischer Ausbildung zeigen.

Der Nucleolus, der nunmehr stärker ausgehöhlt erscheint, kann mitten in dem Knäuel liegen, er kann ihm aber auch nur aufgelagert sein oder sich völlig abseits befinden.

Während dieses im Gegensatz zur Präsynapsis allem Anschein nach ziemlich lange dauernden Stadiums verdicken und verkürzen sich die ineinandergewirrten Fäden mehr und mehr, und ihre Windungen werden deshalb viel übersichtlicher (Fig. 70). Wenn die ganze Entwicklung ihren Höhepunkt erreicht hat, kann man zweierlei wahrnehmen. Man sieht an günstigen Stellen, daß der nunmehr dicke, glatte Faden längsgespalten ist. Ferner bemerkt man jetzt in dem Knäuel zahlreiche freie Fadenenden, ein Zeichen, daß in diesem Stadium sicher freie Fadensegmente — ich werde diesen neutralen Ausdruck auch noch späterhin gebrauchen — vorhanden sind (Fig. 71—73). Lage und Aussehen des Nucleolus ist auch in den Figuren ersichtlich.

Mein Stadium der »eigentlichen Synapsis« entspricht den *Noyaux synaptènes* von Winiwarter.

3. Die Postsynapsis.

Der einseitig im Kernraum zusammengezogene Knäuel längsgespaltener freier Fadensegmente lockert sich in diesem Stadium auf. Die Segmente treten aus dem Knäuel heraus und legen sich in geschwungenen Linien der Kernwand von innen dicht an. Der Längsspalt, welcher die Segmente durchsetzt, ist nunmehr ganz deutlich geworden. Irgend welche Hinweise darauf, daß der Längsspalt nicht ein wirklicher

Längsspalt ist und daß die Doppelfäden im Sinne WINIWARTERS u. a. durch parallele Nebeneinanderlagerung je zweier Einzelfäden (Parallelkonjugation, Parasyndese) ihre Entstehung nehmen, habe ich bei den Copepoden nicht gefunden. Gleichzeitig mit dem Auftreten des Längsspalts hat die Färbbarkeit der Fäden ein wenig abgenommen. Der Nucleolus liegt meist in der Tiefe des Kerns und ist deshalb in Fig. 74, welche eine Oberflächenansicht eines postsynaptischen Kerns ist, nicht zu sehen.

Auch das Stadium der Postsynapsis nimmt immer eine breite Zone des Ovars ein. Es entspricht den *Noyaux pachytènes* bis *Noyaux diplotènes* WINIWARTERS.

II. Die Wachstumsphase.

Diese Unterabteilung der Reifungsperiode ist durch ein intensives Wachstum der Oocyten gekennzeichnet, und zwar nehmen Cytoplasma und Kern gleicherweise daran teil. Da das Wachstum und die sonstigen Veränderungen des Zelleibs unter dem Abschnitt Dotterbildung schon besprochen wurden, so hätten uns hier nur noch die Veränderungen des Kerns zu beschäftigen. Diese sind aber so mannigfacher Art und variieren bei den einzelnen Genera und Spezies so außerordentlich, daß ich von dem bisherigen Verfahren, die Vorgänge für alle untersuchten Copepoden zugleich zu schildern, abgehen muß. Da aber auch eine Beschreibung des Verhaltens jeder einzelnen Spezies während der Wachstumsphase schon des Raums wegen nicht angeht, muß ich mich auf die genaue Schilderung einiger Typen beschränken und alles andre anhangsweise erwähnen.

1. *Cyclops*.

Die frühe Diakinese eines Cyclopiden ist bis jetzt von HÄCKER (1893) bei *Cyclops strenuus* und von LERAT (1905) bei demselben Objekt untersucht worden.

Die späte Diakinese hat eine noch eingehendere Bearbeitung gefunden. Zu den schon oben erwähnten Arbeiten von HÄCKER und LERAT kommt die Untersuchung von RÜCRERT (1894a), in der unter anderm auch gerade die späte Diakinese von *Cyclops strenuus* eingehende Berücksichtigung findet, ohne daß jedoch bezüglich dieses Stadiums eine Einhelligkeit erzielt worden ist.

Wie nun aus meinen Untersuchungen hervorgeht, verläuft die Diakinese innerhalb des Genus *Cyclops* nach zwei wohlgesonderten Typen:

Zum ersten Typus gehören: *C. gracilis*, *C. dybowskii*, *C. bicuspidatus* (die var. *odessana* eingeschlossen), *C. vernalis*, *C. strenuus*, *C. insignis*, *C. viridis*.

Die Chromosomen der frühen Diakinese sind bei diesen Cyclopiden lange, dünne Doppelfäden, die den Kern in vielen Windungen durchziehen und den kurzen kompakten Doppelstäbchen der späten Diakinese gar nicht gleichen. Zur Bildung eines typischen Keimbläschenstadiums, in dem das Chromatin so verstäubt würde, daß man von den Doppelfadensegmenten nichts mehr sieht, kommt es nicht. Ein Ersatz für dieses Stadium ist wohl darin zu erblicken, daß zwischen früher und später Diakinese die Segmente sehr an ihrer Färbbarkeit verlieren oder sich zu einem außerordentlich dichten Fadenknäuel ausspinnen, der in einzelnen Fällen an synaptische Stadien erinnert (s. S. 68 *C. viridis*).

Zum zweiten Typus gehören: *C. phaleratus*, *C. affinis*, *C. fuscus* *C. albidus*, *C. fuscus* var. *distinctus*, *C. serrulatus*, *C. prasinus*.

Die Chromosomen der frühen Diakinese gleichen denen der späten Diakinese außerordentlich und sind wie diese kurze, kompakte Doppelstäbchen. Zwischen frühe und späte Diakinese ist meist ein typisches Keimbläschenstadium eingeschoben, in welchem das Chromatin im Kern verstäubt und von distinkten Chromosomen keine Spur mehr zu sehen ist.

Diese beiden Typen decken sich mit den zwei Hauptgruppen der Cyclopiden, welche Vosseler (1886) und Schmeil (1892) auf Grund äußerer morphologischer Merkmale unterschieden haben (vgl. S. 42).

Erster Typus. (*C. gracilis*, *C. dybowskii*, *C. bicuspidatus* (mit var. *odessana*), *C. vernalis*, *C. viridis*, *C. strenuus*, *C. insignis*).

Als Repräsentant dieser Gruppe soll *Cyclops gracilis* ausführlicher beschrieben werden.

Wie wir schon früher (S. 63) gesehen haben, legen sich die längsgespaltenen Fadensegmente, nachdem sie sich aus dem synaptischen Knäuel gelöst haben, der Kernmembran in mannigfachen Windungen dicht an. Sie sind noch gut färbbar, lassen sich aber bei *Cyclops gracilis* infolge der Kleinheit der Oocytenkerne nicht in ihrem ganzen Verlauf verfolgen (Fig. 1). Der Nucleolus, der meist in der Einzahl vorhanden ist, stellt ein unregelmäßig rundliches Gebilde dar mit einer Art Vacuole in der Mitte.

Das mit der Wachstumsperiode einsetzende Wachstum des Kerns und des Cytoplasmas geht bei dem von mir untersuchten *Cyclops gracilis* (er stammt aus den Tümpeln des Burgholzhofes bei Stuttgart) ganz allmählich vor sich. Auch die Dotterbildung setzt langsam ein und findet erst kurz vor der Eiablage ihren Abschluß.

Beim Wachstum des Kerns, das nach dem Stadium der Postsynapsis einsetzt, verlieren die längsgespaltenen Fadensegmente ihr glattes Aussehen (Fig. 1, rechts). Sie werden allmählich breiter und scheinen nicht mehr so kompakt zu sein. An vielen Stellen sieht es aus, als ob sie mit Höckerchen und Zacken besetzt wären, von denen verästelte Fäden und Fasern ausgehen, die sich mit ähnlichen Fasern andrer Segmente vereinigen und sich mannigfach verästelt im Kern verlieren. Doch ist diese Erscheinung lange nicht so ausgeprägt wie bei *Heterocope saliens*, wo es, wie wir später noch sehen werden, zur Ausbildung eines Netz- oder Maschenwerkes kommt, in das die Fadensegmente eingebettet erscheinen. Immerhin genügt auch bei *Cyclops gracilis* dieser Vorgang, um während der Wachstumsperiode, soweit sie sich in den Endteilen des Ovars und Anfangsteilen der Ovidukte abspielt, den Fadensegmenten eine beträchtliche Unsicherheit der Abgrenzung zu geben. (Fig. 2). Sie verschwinden aber nie völlig, und insbesondere ist die longitudinale Teilung der Segmente jederzeit sichtbar, wie das schon Häcker (1893) und Lerat (1905) bei *Cyclops strenuus* gezeigt haben.

Auf das Blasserwerden der chromatischen Fadensegmente folgt nun die allmähliche Verkürzung und Verdichtung der längsgespaltenen Segmente in der späten Diakinese, welche zur Ausbildung der charakteristischen Chromosomen der »biserialen Anordnung« führt.

Im einzelnen kann man folgendes feststellen. Die Stadien der späten Diakinese findet man ausnahmslos in Oocyten, die in den Ovidukten sich befinden. Kern und Kernkörper fahren zunächst noch im Wachstum fort, die Fadensegmente aber beginnen sich zu verkürzen und stärker zu färben. Sie sind zwar oft noch miteinander verschlungen, und es sind insbesondere häufig die Spalthälften jedes Segmentes strepsinemenartig umeinandergedreht, aber man kann in diesem Stadium ihre Zahl mit Bestimmtheit feststellen. Es sind drei längsgespaltene Segmente da (Fig. 3), also gerade soviel wie Ditetraden in der biserialen Anordnung (S. 57) und halb soviel wie bei den Furchungsteilungen. Sodann wird man erstmals eines merkwürdigen Verhältnisses gewahr, das Chromosomen und Nucleolus verbindet und das für die späte Diakinese von *Cyclops gracilis* äußerst charakteristisch ist. Es sieht nämlich aus, als ob die Fadensegmente an den Nucleolus angeheftet wären und von ihm ausstrahlen (Fig. 3—6). Eine genaue Untersuchung dieses für die Frage nach den Beziehungen zwischen Chromosomen und Nucleolus wichtigen Vorkommens hat aber gezeigt, daß die Vereinigung von Nucleolus und Chromosomen bzw. längsgespaltenen Fadensegmenten keine innige ist, denn sie reichen zwar an den Nucleolus heran, dringen aber nicht in ihn ein.

Die Fig. 4—6 zeigen die weitere Entwicklung der längsgespaltenen Segmente. Sie werden kürzer und kompakter, und der Zwischenraum zwischen den Spalthälften vergrößert sich beträchtlich. Diese selbst sind nicht mehr strepsinemenartig umeinandergelegt, sondern geradegestreckt und nehmen mehr und mehr die Gestalt von Stäbchen an. Aus jedem längsgespaltenen Fadensegment ist ein Stäbchenpaar oder Doppelstäbchen geworden. Ein Einzelstäbchen des Doppelstäbchens oder Stäbchenpaares entspricht somit einer Spalthälfte des longitudinal gespaltenen Fadensegmentes. Auch die Einzelstäbchen des Doppelstäbchens lassen wichtige Veränderungen erkennen. So sieht man in Fig. 4 und noch besser in Fig. 5, daß jedes Einzelstäbchen wieder longitudinal gespalten ist. Dieser »sekundäre« Längsspalt, wie ich ihn im Unterschied zu dem »primären« Längsspalt, der die Doppelstäbchen in die Einzelstäbchen trennt, benennen will, kann später (Fig. 6) zeitweise verschwinden, kommt aber in der biserialen Anordnung wieder zum Vorschein. Fig. 6 zeigt ferner, daß jedes Einzelstäbchen in der Mitte quergekerbt ist. In den vorhergehenden Stadien ist diese Querkerbe nur andeutungsweise vorhanden, so daß ich sie in den Zeichnungen nicht anbringen konnte, dagegen wird sie von dem vorliegenden Stadium an deutlich sichtbar und später immer deutlicher.

Sowohl der Kern als auch der Nucleolus haben nunmehr, nachdem die Chromosomen ihre volle Ausbildung erreicht haben, erst ihre endgiltige Größe erreicht. Der Kern besitzt ein etwa 20—30mal größeres Volumen als zu Anfang der Wachstumsperiode. Auch der Nucleolus hat sich während der Ausbildung der Chromosomen wesentlich vergrößert (Fig. 3—6), ist aber ein wenig blasser geworden, und in seinem Innern zeigen sich zahlreiche kleine Vacuolen oder eine große Vacuole.

Die auf das Stadium der Fig. 6 folgenden Veränderungen, welche zum Verschwinden der Kernmembran, zum Zerfall des Nucleolus und zur Einstellung der Chromosomen in die »biseriale Anordnung« führen, gehen äußerst schnell vor sich. Man trifft diese Bilder deshalb selten. Der Vorgang, der übrigens im Prinzip bei allen Copepoden, also auch bei den Cyclopiden des zweiten Typus sowie bei den Centropagiden der gleiche ist, spielt sich in folgender Weise ab:

Die Kernmembran schwindet sehr schnell, ohne daß der Kern vorher an Größe zurückgegangen wäre. Chromosomen und Nucleolus liegen frei in einer Plasmainsel inmitten des Dotters. Nunmehr beginnt ein äußerst schneller Zerfall des Nucleolus (Fig. 7—8): Er verliert seine rundliche Gestalt und wird stift- oder bandförmig. Manchmal zerfällt er auch sofort in einzelne Brocken. Das ganze Kernplasma wird stark färbbar, eine

Veränderung, die möglicherweise von den Zerfallsprodukten des Nucleolus, die sich schnell im Plasma verteilen, herrührt. Sehr oft scheint es auch im Bereich dieser Plasmainsel zu einer nachträglichen Dotterbildung zu kommen (s. S. 46). Die Bewegung der Chromosomen ist der starken Färbung des Plasmas wegen nicht so leicht zu verfolgen. Schon im Stadium der Fig. 6 haben sie sich teilweise vom Nucleolus emanzipiert. Besonders ein Doppelstäbchen eilt den andern immer voraus. Nach dem Schwinden der Kernmembran liegen die Doppelstäbchen regellos zwischen Zerfallsresten des Nucleolus in der Plasmainsel zerstreut (Fig. 7). Dann aber rücken sie mehr und mehr nach der Mitte der Insel zu (Fig. 8) und stellen sich zuletzt so ein, daß der »primäre Längsspalt« (S. 67) aller drei Doppelstäbchen in eine Ebene zu liegen kommt (Fig. 9a). Betrachtet man diese Chromosomenanordnung von oben, so sieht man in einer oberen Ebene drei längsgespaltene, quergekerbte Stäbchen und in einer ihr parallelen, darunter liegenden Ebene das gleiche Sortiment von Stäbchen (Fig. 9b, wo aber nur eine Ebene mit den drei längsgespaltenen, quergekerbten Stäbchen gezeichnet ist).

Diese Anordnung der Chromosomen ist aber, wie wir von früher wissen (S. 37), die »biseriale Anordnung« der Chromosomen.

Wir können nunmehr auch mit Sicherheit sagen, daß der breite Spalt, welcher in der Seitenansicht (Fig. 9a) zwischen je einem Doppelstäbchen hindurchgeht, dem »primären« Längsspalt entspricht. Der schmale Spalt dagegen, der bei einer Ansicht von oben die Einzelstäbchen selbst der Länge nach teilt (Fig. 9b), entspricht dem »sekundären« Längsspalt. Die Querkerbe endlich teilt jedes Einzelstäbchen quer in der Mitte.

Auch die andern Angehörigen dieser Gruppe zeigen im Prinzip das gleiche Verhalten wie *Cyclops gracilis*. Am nächsten schließen sich an *Cyclops gracilis* an *Cyclops vernalis*, *Cyclops dybowskii*, *Cyclops bicuspidatus*. Schon mehr weichen *Cyclops strenuus* und sein Verwandter *Cyclops insignis* ab, weil bei ihnen die regressive Metamorphose der Segmente, wie auch Lerat (1905) bei seinem *Cyclops strenuus* fand, sehr weit geht. Indessen verschwinden die längsgespaltenen Segmente nie vollständig. Lerat (1905, S. 178) sagt, »Mais quelque granuleux, quelque pâles que deviennent les filaments, on les suit toujours très facilement et de plus, chose importante, on ne voit jamais disparaître les dualités.« Bei *Cyclops viridis* endlich spinnen sich die langen Doppelfäden, welche sich aus der Synapsis lösen, zu einem dichten Gewirr von feinen Fäden aus, die sich einseitig im Kernraum um den Nucleolus zusammenballen (Fig. 27), so daß das Bild einer zweiten synaptischen Zusammendrängung entsteht,

welche noch längere Zeit persistiert (Fig. 28). Es steht indes dieses Verhalten von *Cyclops viridis*, abgesehen von ähnlichen Beobachtungen bei andern Objekten (Giardina, vgl. auch Häcker 1907, S. 80 unten), auch innerhalb des Genus *Cyclops* nicht vereinzelt da. So fand ich eine ähnliche, wenn auch nicht so ausgeprägte (sekundäre) synaptische Zusammendrängung im Stadium der frühen Diakinese auch bei *Cyclops strenuus* (Fig. 26). Auch Lerat (1905) hat Ähnliches einer allerdings nicht bestimmt lautenden Bemerkung nach bei seinem *Cyclops strenuus* beobachtet. Er spricht von einem »magma chromatique«, das man während der Wachstumsphase an Stelle der ursprünglichen Synapsis beobachten könne.

Auch in der späten Diakinese sind die Bilder bei den Angehörigen dieses Typus oft recht verschieden. Dies beruht jedoch lediglich auf der für jede Spezies charakteristischen Zahl, Länge und Dicke der Chromosomen sowie auf der wechselnden Zahl, Gestalt und Anordnung der Nucleolen. Die wesentlichen Erscheinungen an jedem einzelnen Chromosom sind die gleichen wie bei *Cyclops gracilis*. Von einer Verbindung von Nucleolus und Chromosomen, wie sie für diesen Copepoden in der späten Diakinese so sehr charakteristisch war, ist bei den andern Angehörigen dieses Typus nichts zu sehen.

Zweiter Typus. (*C. phaleratus*, *C. affinis*, *C. fuscus*, *C. albidus*, *C. fuscus* var. *distinctus*, *C. serrulatus*, *C. prasinus*)

Bei diesen Cyclopiden sind die Chromosomen der frühen Diakinese wesentlich anders gestaltet als bei dem ersten Typus (s. S. 65). Während bei allen Cyclopiden, die dem ersten Typus angehören, die Chromosomen der frühen Diakinese lange, längsgespaltene Fadensegmente sind, welche mit den kurzen Doppelstäbchen der späten Diakinese wenig Ähnlichkeit haben, sind bei dem zweiten Typus die Chromosomen der frühen Diakinese zwar nicht so kompakt wie die der späten Diakinese, gleichen ihnen aber sehr durch ihre Stäbchenform.

Alle Charaktere dieses Typus zeigen sich bei *Cyclops phaleratus* besonders gut ausgeprägt. Ich lege deshalb die bei ihm gefundenen Verhältnisse der nachfolgenden Beschreibung zu Grunde.

Auch hier soll wieder, wie bei *Cyclops gracilis*, von dem Stadium der Postsynapsis ausgegangen werden, in welchem die längsgespaltenen Fadensegmente in Windungen dicht an die Kernmembran geschmiegt den Kern durchziehen (Fig. 33 links). Die Doppelfadensegmente sind noch ziemlich lang und lassen ihren Längsspalt noch nicht sehr deutlich erkennen.

Die Wachstumsperiode ist bei *Cyclops phaleratus* von der Postsynapsis nicht deutlich abgesetzt. Man sieht nur, daß die langen Doppelfaden-

segmente sich schnell verkürzen und an Färbbarkeit zunehmen. Gleichzeitig wird der Längsspalt, der jedes Fadensegment durchzieht, sehr deutlich (Fig. 33 rechts).

In späteren Stadien der frühen Diakinese, welche in der Mitte des Ovars und gegen den Abgangspunkt der Oviduktäste zu liegen, werden alle diese Verhältnisse noch klarer. Der Kern ist nämlich ein wenig gewachsen, und man sieht die Chromosomen, welche nun die Gestalt von Doppelstäbchen haben, scharf gegeneinander abgegrenzt. Neben sechs Doppelstäbchen ist noch ein kleines Chromosom vorhanden, das nicht längsgespalten ist und sich stärker als die sechs andern Chromosomen färbt (Fig. 34 bei *h*). Es unterscheidet sich also sowohl durch seine Form als auch durch sein tinktionelles Verhalten gegen die andern Chromosomen und ist deshalb als »Heterochromosom« im Sinne Montgomerys (1901) zu bezeichnen. [Vgl. auch Korschelt und Heider (1903, S. 599), Gutherz (1906), Häcker (1907, S. 45)]. Auch sein Verhalten in den Reifungsteilungen bestätigt dies (s. S. 92). Die Zahl 6 + 1 »h« der Chromosomen ist dieselbe wie in der Keimzone (vgl. S. 59) und die gleiche wie in der biserialen Anordnung, (vgl. S. 57). Es ist in allen drei Fällen die »reduzierte« Zahl.

Die auffallende Ähnlichkeit der Chromosomen der frühen Diakinese mit denen der späten Diakinese wird noch dadurch erhöht, daß bei einigen günstig gelegenen Chromosomen in der Mitte eines jeden Einzelstäbchens des Doppelstäbchens eine hellere Stelle sichtbar wird, die der Querkerbe, welche in der biserialen Anordnung deutlich hervortritt (Fig. 41 a), entspricht.

Ganz am Ende des Ovars und beim Übertreten der Oocyten in die Ovidukte setzt die Dotterbildung stärker ein und der Kern beschleunigt sein Wachstum sehr. Dies ist das Zeichen für eine ebenso rasche als auch auffallende Veränderung der Doppelstäbchen. Sie werden sofort undeutlich in ihren Umrissen und »zerfließen« zu länglichen Flecken, die in ein granulöses Netzwerk, das sich währenddem ausbildete, eingebettet erscheinen (Fig. 35).

Über die Herkunft und Entstehung dieses Netzwerks bin ich nicht recht im klaren. Bei Sublimatalkoholfixierung ist es viel weniger deutlich als bei Gemischen, die Säuren enthalten. Lerat (1905) hat es im gleichen Stadium bei *Cyclops strenuus* gefunden und beschreibt es als »reseau nucléaire«. Er nimmt an, daß es aus den Chromosomen entsteht.

In einigen Fällen (S. 66 und S. 80) glaube ich auch diese Entstehungsweise annehmen zu müssen. In andern Fällen aber habe ich wieder mehr den Eindruck bekommen, daß es sich um Gerinnungserscheinungen des Kernplasmas handeln könnte.

Bald nach dem Übertreten der Oocyten in den Ovidukt setzt die »progressive Metamorphose« der Chromosomen wieder ein. Die verwaschenen Flecken, die da und dort im Kern liegen, färben sich stärker, bekommen deutliche Umrisse und lassen einen helleren Streifen erkennen, der sie der Länge nach durchzieht (Fig. 36 bei *l*). Es ist der »primäre« Längsspalt, den wir schon in der frühen Diakinese beobachteten und der nun wieder erscheint. Die weiter folgenden Veränderungen, welche zur Bildung der typischen Doppelstäbchen und zu ihrer Einstellung in die biseriale Anordnung führen, sind bei *Cyclops phaleratus* die gleichen, wie sie bei *Cyclops gracilis* (S. 66ff.) beschrieben wurden. Die Fig. 37—41 zeigen dies deutlich.

Ich kann deshalb auf eine nochmalige Schilderung des gesamten Verlaufs der späten Diakinese verzichten. Nur auf drei Punkte sei kurz hingewiesen.

Der erste betrifft die Zahlenverhältnisse.

Es sind, wie aus den Figuren deutlich hervorgeht, geradeso wie in der frühen Diakinese sechs große Chromosomen und ein Heterochromosom vorhanden, also die »reduzierte« Zahl.

Was zweitens die Gestalt der Chromosomen anbelangt, so sei auf die Fig. 39—41 verwiesen. Die großen Chromosomen haben die Gestalt von Doppelstäbchen mit quergekerbten Einzelstäbchen, welch letztere später in der »biserialen Anordnung« (Fig. 41) den »sekundären« Längsspalt erkennen lassen. Das Heterochromosom dagegen zeigt weder einen Längsspalt noch eine Querkerbe.

Drittens möchte ich auf die außerordentliche Ähnlichkeit einiger Stadien der frühen Diakinese mit solchen der späten Diakinese aufmerksam machen. Vgl. zu diesem Zweck insbesondere die beiden Fig. 34 und 38. Dort sind drei Kerne aus der frühen Diakinese abgebildet, hier ein Kern aus der späten Diakinese. Letzterer sieht aus wie ein vergrößertes Abbild der ersteren.

Wie ich schon oben andeutete, werden auch bei den andern Angehörigen dieses Typus Doppelstäbchen in der frühen Diakinese gebildet. Nur fallen diese Stadien nicht sofort ins Auge, wie bei *Cyclops phaleratus*, denn sie füllen hier ganz im Gegensatz zu dort einen relativ kleineren Teil des Ovars aus. Gewöhnlich sind sie auf eine schmale Zone beschränkt, die dicht auf die Zone der postsynaptischen Kerne folgt. Ihr Äußeres ist aber genau wie bei *Cyclops phaleratus*, wie aus einem Vergleich von Fig. 29, die einen Kern von *Cyclops albidus* vorstellt, mit der Fig. 34 deutlich hervorgeht. Auch die beginnende Auflösung der Doppelstäbchen in verwaschene Flecke (Fig. 30) bietet zunächst nichts Neues. Nun aber geht die Auflösung noch weiter, so daß auch die Flecke schwinden und der Kern aussieht wie ein

ruhender Gewebskern. Der ganze Kern scheint von einem feinen Gerinnsel von netziger Struktur erfüllt zu sein. Die chromatische Substanz ist in Flittern, Brocken und Körnchen überall im Kern verteilt, der Nucleolus ist groß und färbt sich stark (Fig. 31).

In diesem Stadium, das die Kerne meist schon zeigen, wenn sie in den mittleren Teilen des Ovars angelangt sind, verbleiben sie während längerer Zeit. Sie wachsen in den Endabschnitten des Ovars und auch noch im Ovidukt auf ein 10—20faches ihres ursprünglichen Volumens an. Es ist also zwischen früher und später Diakinese eine Art »Kernruhestadium« eingeschoben.

Der Eintritt der späten Diakinese ist dadurch gekennzeichnet, daß da und dort im Kern dunklere, geschlängelte Partien sichtbar werden. Sie gleichen nun vollkommen den langgezogenen Flecken, welche im gleichen Stadium bei *Cyclops phaleratus* zu sehen sind (s. Fig. 35—36). Sie wandeln sich auch wie diese zunächst in längsgespaltene Segmente, dann in Doppelstäbchen und zuletzt in die quergekerbten, längsgespaltenen Doppelstäbchen der biserialen Anordnung um.

Das Abweichende in der vorstehend geschilderten Entwicklung der Chromosomen den Verhältnissen bei *Cyclops phaleratus* gegenüber ist also hauptsächlich darin zu erblicken, daß die Kontinuität der Chromosomen an einer Stelle unterbrochen ist.

2. *Canthocamptus.*

Auf *Canthocamptus* soll nur kurz eingegangen werden, einmal, weil mir nicht alle Stadien in der vollständigen Reihe vorliegen wie bei andern Objekten, sodann weil Häcker (1892, 1895b) die Verhältnisse bei *Canthocamptus staphylinus* schoneingehend untersucht hat. Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß während der ganzen Wachstumsphase eine Persistenz der längsgespaltenen Fadensegmente besteht. Ich kann dies bestätigen, allerdings mit der Einschränkung, daß auch hier die Doppelfadensegmente eine Phase durchlaufen, wo sie sich sehr entfärben und ihre gegenseitige Abgrenzung erhebliche Schwierigkeiten macht. Die eigentümlichen Platten- und Ringfiguren, welche Häcker (1892, 1895b) in der späten Diakinese von *Canthocamptus staphylinus* beschrieben hat, beruhen ebenso wie die Plattenbildungen in der biserialen Anordnung (S. 56) auf der sehr engen Lagerung der zwölf langen Doppelstäbchen. Bei geeigneter Färbung lassen sich die Platten in einzelne Chromosomen auflösen (s. oben S. 56). Alles in allem genommen verhält sich

Canthocamptus staphylinus in der Wachstumsphase ähnlich wie die Cyclopiden mit vielen langen und dünnen Chromosomen — *Cyclops dybowskii* und *Cyclops bicuspidatus*.

3. *Diaptomus*.

Am Ende der Postsynapsis und am Anfang der Wachstumsperiode findet man bei *Diaptomus* wie bei andern Copepoden in den Oocytenkernen längsgespaltene Fadensegmente in großer Zahl (Fig. 75 links). Sie sind der Kernwandung dicht angeschmiegt und färben sich ziemlich stark. Je nach der *Diaptomus*-Spezies, die man untersucht, ist die longitudinale Teilung und die Segmentierung mehr oder weniger deutlich. Wie bei *Heterocope* gehen auch bei *Diaptomus* mit dem nunmehr einsetzenden starken Kernwachstum Veränderungen an den Fadensegmenten Hand in Hand. Diese Veränderungen bestehen in der Hauptsache darin, daß die anfangs glatten und gut gefärbten Doppelfadensegmente ihre distinkten Umrisse verlieren (Fig. 75 rechts) und sich sehr entfärben. Die weitere Entwicklung kann nun in verschiedener Weise verlaufen. Bei *Diaptomus salinus* z. B. verschwindet während der starken Entfärbung der Fadensegmente auch ihre longitudinale Teilung, ebenso ist es nicht möglich, einzelne Segmente deutlich zu erkennen. Man findet vielmehr in dem stark wachsenden Kern eine Menge von eigentümlichen federartigen Strängen (Fig. 59), die scheinbar regellos in vielen Windungen den Kern durchziehen und an die bekannten Chromosomentypen im Amphibien- und Selachier-Keimbläschen erinnern. Zweifellos handelt es sich hier um die Spuren der Doppelsegmente. Während des ganzen Keimbläschenstadiums, das durch starkes Kernwachstum besonders gekennzeichnet ist, sieht man diese Spuren (Fig, 60). An einzelnen Stellen kann man auch bemerken, daß je zwei dieser Spuren ungefähr parallel laufen. Jedoch sind solche Bilder selten, und der Parallelismus ist keineswegs auf den ersten Blick zu erkennen. Meist hat man nur den Eindruck eines wirren Durcheinanders von sehr wenig färbbaren, federartigen Strängen. Entsprechend der Größe des Keimbläschens ist auch ein sehr stark gefärbter großer Nucleolus vorhanden. Außer bei *Diaptomus salinus* fand ich auch bei *Diaptomus laciniatus* und *Diaptomus denticornis* im Keimbläschenstadium nur solche Chromosomenspuren in Gestalt von undeutlichen, federartigen Strängen (vgl. Fig. 54). Ein etwas andres Schicksal haben die Doppelfadensegmente bei *Diaptomus castor* und *Diaptomus coeruleus*. Statt daß sie sich in ein Gewirr von Strängen auflösen, verkürzen sie sich (Fig. 75 rechts) zu Gebilden (Fig. 76), welche den Doppelstäbchen, die wir bei *Cyclops phaleratus* in der frühen Diakinese kennen lernten, gleichen. Sie sind aber

viel weniger kompakt und färben sich deshalb auch sehr wenig. Dagegen kann man einen Spalt zwischen den Einzelstäbchen des Doppelstäbchens deutlich erkennen. Nicht alle Doppelfadensegmente nehmen, wenn sie sich verkürzen, die Gestalt von Doppelstäbchen an. Viele formen sich zu geschlossenen Ringen um (Fig. 77), indem die Einzelstäbchen an den Enden miteinander verklebt sind. Die Doppelstäbchen und Ringe sind zweifellos einander homolog und gehen durch Zwischenformen ineinander über. Mit der Entwicklung solcher Chromosomenformen, welche, wie noch gezeigt werden soll, den Ringen der späten Diakinese von *Diaptomus* außerordentlich gleichen, hat aber der Prozeß der Abblassung sein Ende noch nicht erreicht, vielmehr lösen sich diese Chromosomen nahezu vollkommen auf, indem sie in ihren Umrissen mehr und mehr undeutlich werden (Fig. 82). Zuletzt ist auch hier der Kern der Oocyte, das Keimbläschen, von den eigentümlichen, verschwommenen Chromosomenspuren erfüllt (Fig. 83), die wir in etwas andrer Ausbildung auch bei andern Diaptomiden kennen lernten. Der Unterschied von *Diaptomus castor* und *Diaptomus coeruleus* diesen gegenüber beruht lediglich darauf, daß die Fadensegmente in ihrer Individualisierung, d. h. in ihrer Ausbildung zu kurzen, distinkten Chromosomen (Doppelstäbchen, Ringen), etwas weiter gediehen sind, ehe sie bei abnehmender Färbbarkeit ihre Gestalt verlieren und im Keimbläschenstadium aufgehen.

Ich muß noch einer sehr merkwürdigen Erscheinung gedenken, die ich bei *Diaptomus castor* in der frühen Diakinese beobachtete. Wenn nämlich die Doppelfadensegmente sich zu Doppelstäbchen bzw. Ringen (Fig. 76 u. 77) verkürzt haben, die ebenso wie die Doppelfadensegmente noch dicht unter der Kernmembran liegen, sieht man in der Tiefe des Kerns neben dem Nucleolus einen noch ziemlich stark gefärbten Faden liegen (Fig. 78). Seine Form ist außerordentlich wechselnd (Fig. 79). Sehr selten ist er geradegestreckt, meist in einen dichten Knäuel aufgewickelt. Wir wollen ihn einstweilen als Heterochromosom bezeichnen. Daß diese Bezeichnung richtig ist, wird uns das Schicksal des Heterochromosoms, soweit ich es verfolgen konnte, lehren. Noch während die übrigen Chromosomen ihre typische Stäbchen- und Ringform beibehalten, unterliegt nun auch das Heterochromosom dem geschilderten Entfärbungsprozeß. Es »hinkt« also gewissermaßen den andern Chromosomen in der Entwicklung »nach«. So zeigt Fig. 80, daß das Heterochromosom (h) sich ebenfalls entfärbt hat und daß sein Gefüge viel lockerer geworden ist. Es ist auch ein wenig in die Breite gegangen. In Fig. 81 endlich, wo drei Kerne (*a*, *b*, *c*) abgebildet sind, hat das Heterochromosom (*h*) die gleiche lockere Beschaffenheit seines Körpers erreicht wie die andern Chromosomen. Es ist nur in

den seltensten Fällen verschlungen und um sich selbst gedreht (Fig. 81b bei »*h*«), meist ist es ringförmig (Fig. 81a bei »*h*«) und seiner besonderen Größe wegen mit den viel kleineren gewöhnlichen Chromosomen, die ja sehr häufig auch ringförmig sind, nicht zu verwechseln. Von der schmalen Kante aus sieht das ringförmige Heterochromosom aus wie ein breites Stäbchen (Fig. 81c bei »*h*«). Gleichzeitig mit den andern Chromosomen verliert auch das Heterochromosom im Keimbläschenstadium, wie schon beschrieben wurde, seine bestimmte Gestalt und ist unter den Chromosomenspuren (Fig. 82 u. 83) nicht mehr zu erkennen.

Das Keimbläschenstadium ist von verschieden langer Dauer. Es hängt dies sowohl von den einzelnen Spezies als auch von den innerhalb der Spezies wechselnden Verhältnissen der Eiablage ab. Besonders lang dauert es meinen Erfahrungen nach bei *Diaptomus castor* und *Diaptomus coeruleus*. Es kann bis zu 4 Wochen lang dauern. Um so geringer ist die Zeit, welche bei diesen Formen die späte Diakinese in Anspruch nimmt. Nach allen meinen Erfahrungen verläuft sie bei *Diaptomus castor* z. B. in einem Zeitraum von etwa 30 Minuten. Ich habe überhaupt immer gefunden, nicht nur bei Diaptomiden, sondern bei allen Copepoden, daß eine Korrelation zwischen der Dauer des Keimbläschenstadiums und der Dauer der späten Diakinese besteht. Je länger das Keimbläschenstadium ausgedehnt ist, desto schneller werden die Stadien der späten Diakinese durchlaufen.

Die späte Diakinese von *Diaptomus* ist von Rückert (1894a) sehr genau untersucht worden. Ich habe Gelegenheit gehabt, die späte Diakinese zwar nicht an dem Objekt Rückerts, dem *Diaptomus gracilis* des Bodensees, aber an einigen andern Diaptomiden (*D. denticornis*, *D. laciniatus*, *D. coeruleus*, *D. castor*, *D. salinus*) zu untersuchen, und ich kann die Befunde Rückerts durchaus bestätigen.

Ich will deshalb nur im Interesse der Vollständigkeit und mehr referierend das Wichtigste über die späte Diakinese von *Diaptomus* kurz erwähnen.

Auf das typische Keimbläschenstadium mit Chromosomenspuren (vgl. Fig. 59, 60, 82, 83) folgen Stadien, in denen die Spuren sich wieder besser färben und in ihrem Verlauf nun auch besser verfolgt werden können (Fig. 54). Man sieht, daß die Spuren weite Ringe von ziemlich unregelmäßiger Form sind, die in großer Zahl im Kern umherliegen und in ihrer Gesamtheit bei oberflächlicher Betrachtung eigentlich nur wie ein wirres Durcheinander von Strängen aussehen. Es hat schon Rückert (1894a) beschrieben, daß aus diesen weiten, unregelmäßigen, wenig kompakten Ringen durch Verkleinerung und Verdichtung regelmäßige Ringe entstehen,

welche zunächst noch ganz geschlossen sind (Fig. 55). Ich konnte bei *Diaptomus castor* (vgl. S. 73) und noch überzeugender bei *Heterocope saliens* (vgl. S. 80 u. 81) dartun, daß die Ringe aus Doppelfadensegmenten hervorgehen, indem diese an den Enden vereinigt bleiben und in der Mitte auseinanderweichen, und daß die Verlötungsstellen später unkenntlich werden, so daß geschlossene Ringe entstehen. Auch Rückert (1894) hat zur Erklärung der Ringfiguren bei *Diaptomus* und *Heterocope* diese Annahme gemacht. Bei weiterer Verkleinerung und Verdichtung der Ringe (Fig. 56) lassen sie vier Unterbrechungen erkennen. Zwei dieser Unterbrechungen entsprechen, wie ich mit Rückert (1894a) annehmen möchte, den ursprünglichen Verklebungsstellen der Enden der Spalthälften, die beiden andern den Querkerben der Doppelstäbchen von *Cyclops* (Textfig. 16). Es sind somit die Ringe von *Diaptomus* den Doppelstäbchen von *Cyclops* homolog. Die Auflösung des primären Keimbläschens, Zerfall des Nucleolus und die Bildung der biserialen Anordnung sowie des sekundären Keimbläschens wurde schon beschrieben. Es gehen diese Vorgänge auch bei *Diaptomus* sehr schnell vor sich. Die viergeteilten Ringe stellen sich in der biserialen Anordnung so ein, daß ein Paar korrespondierender Kerben in die Äquatorebene der ersten Richtungsspindel zu liegen kommt, und zwar möchte ich wegen der Homologie mit den Doppelstäbchen von *Cyclops* annehmen, daß dieses Kerbenpaar den Verlötungsstellen der Doppelfadensegmente entspricht. Es würden dann in der ersten Reifungsteilung (vgl. S. 88) auch bei *Diaptomus* die Einzelfäden der ehemaligen Doppelfäden voneinander getrennt. Ein strenger Beweis liegt aber natürlich für *Diaptomus* nicht vor.

Textfig. 16.



Schematische Darstellung der quergekerbten Doppelstäbchen von *Cyclops* (*a*) und der vierteiligen Ringe von *Diaptomus* und *Heterocope* (*b*), um deren Übereinstimmung zu zeigen.

Fig. 57 zeigt, wie das primäre Keimbläschen sich auflöst und in der so entstandenen Plasmainsel (vgl. S. 47) sich um die biseriale Anordnung herum ein neues, viel kleineres, querovales Bläschen, das sekundäre Keimbläschen (Häcker 1902) bildet (vgl. auch S. 82). Dieses querovale Bläschen steigt noch im Ovidukt oder spätestens beim Austreten der Eier in die Höhe an die Oberfläche des Eis. Dort zieht es sich in die Länge und bildet die erste Richtungsspindel (Fig. 58a). Die viergeteilten Ringe sehen dann, da sich nun auch der von *Cyclops* her bekannte zweite Längsspalt bemerklich macht, von oben wie winzige Vierergruppen aus, die in zwei dicht aufeinanderliegenden Schichten einander paarweise gegenüber-

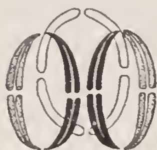
liegen, also Ditetraden bilden (Fig. 58b). Auch daraus geht hervor, daß die Ringe von *Diaptomus* den Doppelstäbchen von *Cyclops* homolog sind. Beide sind Ditetraden.

Noch deutlicher geht die Homologie der Chromosomen der Diaptomiden und Cyclopiden aus meinen Befunden bei *Diaptomus salinus* hervor. Aus dem Keimbläschenstadium mit seinen federigen Chromosomenspuren (Fig. 59—61) gehen lange geschlängelte Doppelfäden hervor (Fig. 62). Diese Doppelfäden verkürzen und verdichten sich, und es entstehen Chromosomen, welche die Charaktere von *Diaptomus* und *Cyclops* in merkwürdiger Weise gemischt enthalten (Fig. 63). Neben Ringen, welche ihre Entstehung aus Doppelfadensegmenten durch Verkleben der Enden und Auseinanderweichen der mittleren Partien deutlich erkennen lassen, findet man alle Übergänge bis zu den typischen Doppelstäbchen der Cyclopiden. In späteren Stadien (Fig. 64) haben sich alle Chromosomen in Doppelstäbchen verwandelt. Die Einzelstäbchen der Doppelstäbchen sind umeinandergedreht oder kreuzweise übereinandergelegt. Selten liegen sie schön parallel. Die meisten Einzelstäbchen lassen einen Längsspalt (den »sekundären«, vgl. S. 67, Fig. 64 bei *l*) erkennen. In einem noch weiter fortgeschrittenen Stadium der späten Diakinese (Fig. 65) gleichen die Doppelstäbchen dieses Diaptomiden den Doppelstäbchen von *Cyclops* so außerordentlich, daß auch der Kenner, wenn man ihm zwei entsprechende Stadien der späten Diakinese von *Cyclops* und *Diaptomus salinus* vorlegt, kaum einen Unterschied findet (vgl. Fig. 65 mit Fig. 39). Der sekundäre Längsspalt ist nicht mehr zu sehen. Er kommt erst wieder zum Vorschein, wenn das primäre Keimbläschen sich auflöst (Fig. 66). Dann ist an den sehr verkürzten Doppelstäbchen auch die Querkerbe zu erkennen. Es sind also die Chromosomen von *Diaptomus salinus* ebenso wie diejenigen der andern Diaptomiden Ditetraden. Dies wird noch deutlicher, wenn sich das sekundäre Keimbläschen gebildet hat und an die Oberfläche des Eis gestiegen ist (Fig. 67). Dann sieht man in der biserialen Anordnung von der Seite zwei Schichten von kurzen, paarweise opponierten, quergekerbten Stäbchen (Fig. 68a), von oben zwei Schichten von paarweise gegenübergestellten Tetraden (Fig. 68b).

Es wäre nun noch einiges über das Heterochromosom zu sagen, dessen Schicksal in der frühen Diakinese wir bei *Diaptomus castor* verfolgten. Wir haben gesehen, daß das Heterochromosom des *Diaptomus castor* zuerst ein fadenförmiges, meist aufgeknäueltes Gebilde ist, das sich später bei zunehmender Abblassung meist in einen großen geschlossenen Ring verwandelt und im Keimbläschenstadium ganz verschwindet. Leider konnte ich in der späten Diakinese das Heterochromosom nicht genau genug ver-

folgen, denn die späte Diakinese geht außerordentlich schnell von statten, so daß man äußerst selten ein Stadium zwischen Keimbläschenstadium und biserialer Anordnung antrifft. Ich habe eine außerordentliche Menge von Tieren (etwa 1000) geschnitten und trotzdem nur in seltenen Fällen das fragliche Stadium erhalten. Auch zeigt es sich, wenn man ein spätdiakinetisches Stadium erhalten hat, daß sich der Kernsaft so stark färbt, daß die Chromosomen fast unsichtbar werden. Die Schwierigkeit wird noch dadurch erhöht, daß im Kern vom Keimbläschenstadium an eine Art Vacuole, d. h. ein hellerer, von dunklen Strängen durchzogener, rundlicher Fleck sichtbar wird, welcher oft $^1/_2$ bis $^3/_4$ des ganzen Kerns ausfüllt (Fig. 84 u. 85) und so die Klarheit der Bilder wesentlich beeinträchtigt. Über die Bedeutung dieser Erscheinung bin ich völlig im unklaren, umsomehr, da sie bei der Auflösung des primären Keimbläschens und Bildung des sekundären Keimbläschens (Fig. 87) nicht mehr zu beobachten ist.

Textfig. 17.



Das Heterochromosom von *Diaptomus castor* schematisch dargestellt: drei ringförmige, in einem Ring angeordnete Ditetraden.

Das Heterochromosom nun ist, so viel ich aus den wenigen Bildern entnehmen konnte, auch in der späten Diakinese, wie in der frühen (Fig. 79), ein sehr vielgestaltiges Gebilde (Fig. 85 u. 86), fällt aber seiner besonderen Form wegen gleich ins Auge. Ich habe immer den Eindruck bekommen, daß das Heterochromosom aus drei aneinandergehängten Ringen ◯◯◯ bestehe, die in merkwürdiger Weise gedreht und verschlungen sind. Auch wenn sich die biseriale Anordnung bildet, ist diese Dreiteilung des Heterochromosoms sichtbar und wird später noch deutlicher. In der biserialen Anordnung ist dann das Heterochromosom (Fig. 88—90) ein *ringförmiges, deutlich dreigeteiltes Gebilde*, das sich von den andern Chromosomen, die vierteilige Ringe sind, auch durch seine Größe unterscheidet. Wenn sich die erste Richtungsspindel gebildet hat, ist die Dreiteilung und überhaupt der Aufbau des Chromosoms noch deutlicher geworden (Fig. 89b). Das Heterochromosom besteht nunmehr aus drei zu einem Ring vereinigten (vgl. Textfig. 17), ihrerseits ringförmigen Ditetraden, die durch Lininbrücken verbunden sind. Zu Beginn der Anaphase I verschwinden die verbindenden Lininbrücken völlig und die drei in einem Ring vereinigten, ringförmigen Ditetraden verhalten sich bei der Teilung (vgl. S. 88) genau wie die andern Ditetraden, d. h. sie spalten sich in zwei Halbringe, welche ihrerseits längsgespalten und quergekerbt sind (Textfig. 18). Wenn also in der biserialen Anordnung 14 Ditetraden und ein Heterochromosom, d. i. drei in einen Ring gestellte und durch Lininbrücken ver-

bundene Ditetraden vorhanden waren, so findet man nun im Eikern und im Rk I je 17 Tetraden (Fig. 94).

Ich habe mir deshalb folgende Anschauung über das Heterochromosom von *Diaptomus castor* gebildet:

Aus dem ursprünglichen Knäuelfaden segmentieren sich am Anfang der Reifungsperiode 17 Elemente heraus. Drei davon bleiben aber durch Lininbrücken eng verbunden. Die 14 einfachen Segmente wandeln sich nach dem Auftreten der I. longitudinalen Teilung in die typischen Chromosomen der frühen Diakinese (Ringe, Doppelstäbchen) um. Das Heterochromosom dagegen, eben jene drei durch Lininbrücken verbundenen Segmente, »hinkt« in seiner Entwicklung aus irgend einem Grunde — ich glaube, daß in dem Heterochromosom drei in Rückbildung (im Abbau) begriffene Chromosomen vereinigt sind (vgl. S. 109) — den andern nach. Gleichzeitig zeigt es Neigung, eine ringähnliche Figur durch Zusammenbiegen seiner Enden zu bilden (Fig. 81). Die weitere Entwicklung kann der Entfärbung der Chromosomen im Keimbläschenstadium wegen nicht verfolgt werden. Jedenfalls erfolgt nun auch bei den drei Komponenten des Heterochromosoms die Umwandlung der einzelnen Segmente in Ringe, so daß in der späten Diakinese das Heterochromosom als eine Aggregation von drei Ringen sich darstellt, die zunächst noch unbestimmte Figuren bilden (vgl. Fig. 85 u. 86). Sodann macht sich aber bei dem Heterochromosom wieder die Neigung, seine Enden zu einem großen Ring zusammenzubiegen, bemerklich (Fig. 88—90). Dann stellt das Heterochromosom einen großen aus drei Ringen gebildeten Ring dar. Wenn dann an allen Ringen (die drei des Heterochromosoms eingeschlossen) die vier Kerben auftreten und der sekundäre Längsspalt sich zeigt, so finden wir im Kern 17 Ditetraden, von denen drei (das Heterochromosom) durch Lininbrücken zu einer ringähnlichen Figur verbunden sind.

Textfig. 18.



Verhalten des Heterochromosoms in der Anaphase I, schematisch dargestellt.

4. *Heterocope.*

Rückert (1894a) hat die späte Diakinese von *Heterocope weismanni* ausführlich in Wort und Bild beschrieben. Sonst finden sich nur noch bei vom Rath (1895) einige Angaben über die Wachstumsphase von *Heterocope saliens.*

Da die späte Diakinese durch die Arbeit Rückerts genügend bekannt ist, habe ich vorzugsweise die Verhältnisse der frühen Diakinese klarzu-

stellen versucht Ein geeignetes Material bietet sich in der *Heterocope saliens* des Titi- und Feldsees dar.

Wie bei allen Copepoden, so finden wir auch bei *Heterocope* am Ende der Postsynapsis bzw. am Anfang der Wachstumsphase, daß die längsgespaltenen Fadensegmente in langen geschwungenen Linien der Kernwand von innen dicht anliegen (Fig. 102). Der Nucleclus liegt meist im Innern des Kerns und ist deshalb in der Figur, die eine Oberflächenansicht ist, nicht zu sehen. Er ist ein rundes, stark färbbares Gebilde mit einer bis mehreren Vacuolen im Innern.

Zwei Erscheinungen sind es, welche nun in der Folge das Aussehen des Kerns und der Doppelfadensegmente beeinflussen. Nämlich erstens das bedeutende Wachstum des Kerns und zweitens das allmähliche Verblassen der Doppelfadensegmente.

Daß das Kernwachstum ein sehr beträchtliches ist, mag ein Vergleich der Fig. 102 mit der Fig. 103 zeigen. Erstere Abbildung zeigt links einen Kern am Anfang und letztere einen Kern am Ende der frühen Diakinese. Die Volumenvergrößerung verhält sich etwa wie $1:3^3$ d. i. wie $1:27$. Auch der Nucleolus, der auf der Figur nicht sichtbar ist, hat sich enorm vergrößert. Infolge des Kernwachstums liegen die Doppelfadensegmente nicht mehr so dicht beisammen. Sie scheinen auch ein wenig in die Breite gegangen zu sein, weshalb der Längsspalt auch deutlicher geworden ist. Die zweite Veränderung, das allmähliche Verblassen der Doppelfadensegmente ist auch aus den Abbildungen (Fig. 102—103) zu erkennen. Es sieht so aus, als ob die glatten Fäden der Postsynapsis sich mit Höckern und Zäckchen bedecken, von denen Fäden abgehen, die sich im ganzen Kern ausbreiten und mit andern Fäden anastomosieren. Es ist dies offenbar die gleiche Erscheinung, wie ich sie schon des öfteren geschildert habe, die aber bei diesem Objekt am deutlichsten ist. Wenn der ganze Vorgang seinen Höhepunkt erreicht hat, sind die Doppelfadensegmente sehr blaß geworden, und ihr ganzes Gefüge scheint ein lockeres zu sein. Immerhin ist die Abgrenzung der Segmente gegeneinander und ihre longitudinale Teilung noch leidlich zu sehen (Fig. 103). In diesem Stadium, das den Höhepunkt der mangelnden Färbbarkeit der längsgespaltenen Fadensegmente bedeutet, bleiben die Oocyten längere Zeit. Sie treten so in die Ovidukte über, wo dann allmählich die Färbbarkeit der Elemente zunimmt und so die Phase der späten Diakinese ihren Anfang nimmt.

Jetzt beginnen an jedem längsgespaltenen Fadensegment die Spalthälften in der Mitte auseinanderzuweichen, während sie an den Enden verklebt bleiben (Fig. 104). Auf diese Weise entstehen länglich-elliptische Ringe (Fig. 105), denen man ihre Entstehung aus den Doppelfadenseg-

menten noch deutlich ansieht. Wenn sich aber die Ringe verdichten und enger werden, verschwindet diese langgestreckte Gestalt (Fig. 106). Es ist dann auch recht schwer, die Verlötungsstellen — sie machen sich, wie das Rückert (1894a) noch in späteren Stadien feststellte, durch etwas stärkere Färbung bemerkbar — zu entdecken, ja, es ist des öfteren ganz unmöglich.

Etwa von diesem Stadium an bespricht Rückert bei *Heterocope weismanni* den weiteren Verlauf der späten Diakinese. Ich kann alle seine Befunde bestätigen. Sie stimmen auch mit meinen Ergebnissen bei *Heterocope saliens* vollkommen überein. Deshalb will ich die nun folgenden Stadien ganz kurz besprechen und verweise noch einmal auf die ausführliche Darstellung von Rückert (1894a).

Die großen Ringe der Fig. 106 ziehen sich sehr zusammen und werden kompakt und stark färbbar (Fig. 107). Sie zeigen bei diesem Vorgang häufig heterochrone Entwicklung. So sind in Fig. 107 die Ringe *d*, *e* und *f* in der Entwicklung weiter voran als die Ringe *a*, *b* und *c*. Dies gilt auch für eine andre Erscheinung, die in gleicher Weise schon bei *Diaptomus* beobachtet wurde. Während nämlich einzelne Ringe noch gar keine Unterbrechung zeigen (Fig. 107; Ring *a* u. *b*), zeigen andre (Ring *c* z. B.) an zwei gegenüberliegenden Stellen eine Kerbe, und wieder andre (Ring *d*, *e*, *f* z. B.) sind vierfach gekerbt, so daß sie wie vierteilige Ringe aussehen. In dem fortgeschritteneren Stadium der Fig. 108 sind alle Ringe vierteilig und haben ungefähr gleiche Größe. Über die Bedeutung der Vierteilung der Ringe habe ich mich schon früher geäußert. Ich möchte mit Rückert (1894) es als wahrscheinlich, wenn auch nicht als beweisbar annehmen, daß das eine Paar korrespondierender Kerben an der Stelle entsteht, wo die Verlötungsstelle der Doppelfadensegmente war. Es würde also je ein Halbring je einer Spalthälfte des Doppelfadensegments bzw. einem Stäbchen der Doppelstäbchen von *Cyclops* entsprechen (s. Textfig. 16). Dann würde aber auch die Kerbe in der Mitte jedes Halbrings der Kerbe in der Mitte jedes Einzelstäbchens der Doppelstäbchen von *Cyclops* entsprechen (s. dieselbe Textfig.). Für die Homologie der viergeteilten Ringe mit den quergekerbten Doppelstäbchen der späten Diakinese spricht auch ganz entschieden ihre homologe Entwicklung aus Doppelfadensegmenten, ihr Aussehen in der biserialen Anordnung (S. 55) und ihr Schicksal in den Reifungsteilungen, das wir noch kennen lernen werden (S. 88). Mit dem Stadium, das Fig. 108 zeigt, haben die Chromosomen ihre Entwicklung vollendet. Die Auflösung der Kernmenbran, das Schwinden des Nucleolus, der bis zuletzt seine volle Größe beibehielt, und das Einstellen der Chromosomen in die biseriale Anordnung vollzieht sich so, wie ich es schon bei andern Formen gezeigt habe.

Das Aussehen der Chromosomen in der biserialen Anordnung ist bei den beiden untersuchten *Heterocope*-Arten ein wenig verschieden. Bei *Heterocope weismanni* sind es typische Viererkugeln (Textfig. 20), bei *Heterocope saliens* eher viergeteilte Ringe (Fig. 109).

Zusammenfassung über die Wachstumsphase (frühe und späte Diakinese) von *Cyclops*, *Canthocamptus*, *Diaptomus* und *Heterocope*.

Am Anfang der Wachstumsphase sind die Chromosomen bei den Copepoden längsgespaltene Fadensegmente (Doppelfadensegmente), die sich noch in der frühen Diakinese zu Doppelstäbchen (*Cyclops*) oder Ringen (*Diaptomus*) verkürzen können. Ich habe die Überzeugung gewonnen, daß die Spaltung der Fadensegmente (I. Längsspalt), eine wirkliche Längsspaltung ist. Aus den Chromosomen der frühen Diakinese entstehen direkt oder unter Einschaltung eines mehr oder weniger ausgeprägten Keimbläschenstadiums die Chromosomen der späten Diakinese — Doppelstäbchen bei *Cyclops* und *Canthocamptus*, Ringe bei *Diaptomus* und *Heterocope*. Ringe und Doppelstäbchen sind ihrer Entstehung aus Doppelfadensegmenten nach homologe Gebilde und durch Übergänge (*Diaptomus salinus*) verbunden.

Durch das Auftreten von Querkerben und infolge der Ausbildung eines sekundären Längsspaltes wandeln sich sowohl Ringe als auch Doppelstäbchen in die Ditetraden der biserialen Anordnung um.

Diese Darstellung entspricht also im wesentlichen derjenigen, welche Rückert (1894) bezüglich der pelagischen Copepoden des Bodensees und Häcker (1895) bezüglich *Canthocamptus* gegeben hat.

Die Reifungsteilungen.

Das »sekundäre« Keimbläschen, welches in sich die biseriale Anordnung einschließt, steigt bei *Diaptomus* und *Heterocope* meist schon im Ovidukt an die Eioberfläche empor. Es ist anfangs queroval (Fig. 57 u. 87) und liegt schief zur Eioberfläche (Fig. 67). Später stellt es sich so ein, daß die Ebene der biserialen Anordnung parallel zur Eioberfläche liegt, und zieht sich in der Richtung der Polachse zu einem längsovalen Bläschen auseinander (Fig. 58a, 91, 109). Bei den meisten Cyclopiden steigt das sekundäre Keimbläschen, wie Häcker (1895c, 1902) bei *Cyclops viridis* (*brevicornis* Claus) schon beobachten konnte, während der Eiablage und kurz nach derselben an die Oberfläche des Eis empor. Zuletzt ist es auch ein längsovales Bläschen (vgl. Fig. 10). Bei *Canthocamptus* und bei *Cyclops*

phaleratus bleibt die biseriale Anordnung in der Tiefe des Eis, und auch die nächsten Vorgänge spielen sich hier ab. Erst während der Metaphase II und Anaphase II steigt die Teilungsfigur an die Eioberfläche empor.

Die biseriale Anordnung bleibt bei allen Copepoden noch einige Zeit, etwa 3 Minuten, im ausgetretenen Ei bestehen, dann erfolgt schnell der Übergang zur Anaphase I.

Beide Reifungsteilungen finden entgegen der Angabe Lerats (1905) im ausgetretenen Ei statt. (s. Häcker 1896, 1902, Braun 1907, 1909, Matscheck 1909). Bei einem sehr großen Copepodenmaterial, das sich auf vier Genera mit etwa 20 Spezies erstreckt, konnte ich keine Abweichung von dieser Regel finden.

Bezüglich des äußeren Verlaufs der Reifungsteilungen verhalten sich die Cyclopiden, *Diaptomus* und *Heterocope*, *Canthocamptus* und *Cyclops phaleratus* je verschieden voneinander.

1. *Cyclops* (Mit Ausnahme von *Cyclops phaleratus*).

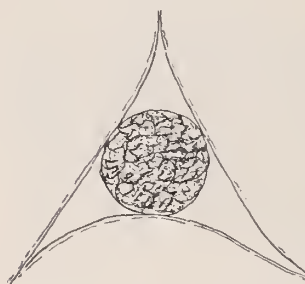
Als Beispiel möge der durch günstige Zahlenverhältnisse ausgezeichnete *Cyclops gracilis* dienen. Wir gehen am besten von der Metaphase I aus, welche im ausgetretenen Ei noch die typische biseriale Anordnung der Chromosomen deutlich zeigt (Fig. 10). In dem tonnenförmigen sekundären Keimbläschen, dessen Wände nunmehr fein gestreift sind (erste Richtungsspindel), liegen die drei längsgespaltenen, quergekerbten Doppelstäbchen, deren Entstehung wir ja schon kennen gelernt haben.

Die Einzelstäbchen sind schon in diesem Stadium weit auseinandergerückt. Man kann an ihnen in der Seitenansicht (Fig. 10) nur die Querkerbe erkennen, nicht aber den »sekundären« Längsspalt. Dieser ist nur bei einer Ansicht der biserialen Anordnung von oben sichtbar (Fig. 9b). Der Beginn der Anaphase I ist in Fig. 11 dargestellt. Das sekundäre Keimbläschen hat die Eioberfläche uhrglasförmig vorgewölbt. Die Einzelstäbchen sind weit voneinander entfernt. In diesem Stadium etwa wird auch bei den Cyclopiden, welche in der biserialen Anordnung den »sekundären« Längsspalt und die Querkerbe nicht deutlich erkennen lassen, beides gut sichtbar.

In Fig. 12 sieht man nun, daß sich das sekundäre Keimbläschen über das Niveau der Eioberfläche herausgehoben hat. Die eine Platte der drei Einzelstäbchen liegt am distalen Ende des sekundären Keimbläschens, die andre Platte dicht unter der Eiperipherie. Die Einzelstäbchen haben nicht mehr die gleiche Lage wie früher. Sie haben sich während des Auseinanderweichens in der Anaphase ein wenig um ihre lange Achse gedreht, so daß man auch in Seitenansicht (Fig. 12) neben der Querkerbe die longi-

tudinale Teilung der Einzelstäbchen erkennen kann. In Fig. 13 beginnt der Rk I sich abzuschnüren. Sowohl im Rk als auch im Eikern haben sich die Einzelstäbchen noch mehr gedreht. Manche stellen sich deshalb schon als typische Vierergruppen dar. Fig. 14 zeigt das nächste Stadium, wo der Rk I völlig abgeschnürt ist. Er liegt als ein ovaler Körper dem Ei mit breiter Fläche auf. Dies ist jedoch nicht immer der Fall. Stößt nämlich der sich abschnürende Rk I nicht gegen andre danebenliegende Eier — dies ist naturgemäß ein ziemlich seltener Fall —, so kann der schmale Isthmus, welcher im Moment der Abschnürung noch Ei und Rk verbindet, unter dem Zug des hängenden Rk sich zu einem langen Stiel ausziehen. Es entstehen so ganz ähnliche Bilder, wie sie auch Häcker (1895c, 1902) bei *Cyclops viridis* gefunden hat. Schließlich kippt der Rk um und kann sich ziemlich entfernt vom Ort der Abschnürung an andre Eier anlegen. Das weitere Schicksal des Rk I ist nicht uninteressant. Er führt zunächst eine Art selbständiges Leben weiter, indem er an Umfang noch ein wenig zunimmt. Auch die längsgespaltenen, quergekerbten Einzelstäbchen, die in ihm liegen, gehen noch Veränderungen ein. Bei den meisten Cyclopiden verkürzen und verdicken sie sich beträchtlich. Die Querkerbe und die longitudinale Teilung der Einzelstäbchen wird dabei so deutlich, daß ein gänzlich ungeübtes Auge ihre Tetradennatur sofort erkennt. Es kommt vor, daß die quergekerbten Spalthälften der Tetraden (s. Fig. 20) sich entlang dem »sekundären« Längsspalt während der Verkürzung und Verdickung völlig trennen (s. Fig. 21, 22). Statt der Vierergruppen in reduzierter Zahl findet man dann quergekerbte Stäbchen in der Normalzahl in dem Rk I (s. Fig. 23), also in dem durch die Fig. 20—23 dargestellten Fall von *Cyclops viridis* statt sechs Tetraden zwölf quergekerbte Stäbchen, ein Verhältnis, welches schon von Häcker bei *Cyclops viridis* als Regel beobachtet worden ist und ihn zu einer irrtümlichen Auffassung des ersten Teilungsprozesses geführt hat. Auch bei *Cyclops albidus*, *Cyclops strenuus* und *Cyclops insignis* konnte ich in einzelnen Fällen ein ähnliches Verhalten konstatieren. Es kommt auch vor, daß die Spalthälften der Tetraden sich verbiegen und krümmen, so daß X-, H-, 8-Figuren entstehen (Fig. 24), oder daß die Tetraden sich rhizopodenartig verästeln (Textfig. 19). In späteren Stadien, etwa von der Kopulation

Textfig. 19.



Rk. I von *Cyclops insignis*.

der Geschlechtskerne an, also etwa 1 Stunde nach seiner Entstehung, fällt der Rk I sehr rasch zusammen und degeneriert zu einem winzigen Chromatinklümpchen, das noch da und dort während der Furchung außerhalb der Furchungskugeln liegt und zuletzt verschwindet.

Nachdem der Rk I völlig abgeschnürt ist, liegen die im Eikern verbleibenden drei längsgespaltenen, quergekerbten Einzelstäbchen (Tetraden) dicht unterhalb der Eimembran in einem uhrglasförmigen, nicht bestimmt gegen die umgebende Dottermasse abgegrenzten Plasmaraum (Fig. 14). Dann treten die Tetraden von der Oberfläche des Eis zurück, und gleichzeitig vertieft sich der Plasmaraum mehr und mehr (Fig. 15). Zuletzt kommt es wieder zur Bildung eines Bläschens, das eigentümlich gestreift ist und die zweite Richtungsspindel darstellt (Fig. 16). Es ist, wie Häcker (1902) schon bei *Cyclops viridis* beobachtete, da, wo es an die Eiperipherie stößt, ein wenig abgestutzt, gleicht aber sonst dem sekundären Keimbläschen (erste Richtungsspindel) (s. Fig. 10) außerordentlich. Die drei längsgespaltenen, quergekerbten Einzelstäbchen (Tetraden) haben ihre Drehung um 90° völlig beendet und haben sich so eingestellt, daß der »sekundäre« Längsspalt aller in der Äquatorialebene der zweiten Richtungsspindel liegt. Während sich bei der Anaphase I die erste Richtungsspindel eher verkürzt als verlängert, ist bei der Anaphase II das Umgekehrte der Fall. Die tonnenförmige zweite Richtungsspindel zieht sich in die Länge und wird dabei ganz schlank (Fig. 17 u. 18). Die quergekerbten Spalthälften der Tetraden werden auseinandergezogen und nach den Polen verteilt. Bei diesem Vorgang nehmen sie haken- bis winkelförmige Gestalt an und werden dicht aneinandergedrängt. Die Anaphase II pflegt ziemlich länger zu dauern als die Anaphase I, und es kommt in dieser Zeit zu Verschiebungen der langgezogenen zweiten Richtungsspindel, die für das Schicksal des Rk II entscheidend sind, wie Häcker (1895c) richtig erkannte und Rückert (1895) gegenüber hervorhob. Liegt nämlich die Richtungsspindel senkrecht zur Eioberfläche, so wird der Rk II zum Ei hinausgedrängt und meist auch völlig abgeschnürt. Liegt die Spindel schief, so gelangt der Rk wohl auch aus dem Ei hinaus, aber die Spindel knickt vor der völligen Abschnürung des Rk winklig um, so daß der Rk wieder ins Ei aufgenommen wird. Bei tangentialer Lage der Spindel bleibt der Rk II im Ei. Auch die weiteren Schicksale des Rk II sind von Häcker (1895c) genau beschrieben worden. Der in der Tiefe liegende Eianteil der zweiten Richtungsspindel wandelt sich durch Umwandlung der Chromosomen in Teilbläschen und Verschmelzung derselben in den bläschenförmigen Kopulationskern um. Der männliche Vorkern, der während der Eiablage ins Ei eingedrungen ist, hat sich in einen bläschenförmigen Kern umgewandelt. Ei- und Samen-

kern wandern aufeinander zu und legen sich aneinander, wie das schon von Rückert (1895) und Häcker (1895c) beschrieben wurde. Etwa 1—1 1/4 Stunden nach der Eiablage ist dieses Stadium der Kopulation der Geschlechtskerne erreicht. Sodann differenziert sich aus jedem Kern die »reduzierte« Zahl von Chromosomen heraus, die in die erste Furchungsspindel eingehen, so daß dort die Normalzahl von Chromosomen vorhanden ist.

Fig. 19 zeigt das Stadium der Kernkopulation bei *Cyclops gracilis*, wo sich in jedem Geschlechtskern drei Chromosomen, also die »reduzierte« Zahl, herausdifferenziert haben. Die Chromosomen sind sehr lang und lassen keine Querkerbe erkennen. Die des einen Geschlechtskerns sind denen des andern in der Entwicklung vorausgeeilt.

Geradeso wie bei *Cyclops gracilis* habe ich die Vorgänge der Reifungsteilung bei den andern untersuchten Cyclopiden (*Cyclops phaleratus* und *Cyclops affinis* ausgenommen) gefunden. Unwesentliche Verschiedenheiten der Bilder sind durch die Zahl, Form und Größe der Chromosomen verursacht. Über das Verhalten der Heterochromosomen s. S. 92.

Somit ergibt sich für den Verlauf der Reifungsteilungen bei den Cyclopiden:

Die erste Reifungsteilung erfolgt nach einem primären, die zweite Reifungsteilung nach einem sekundären Längsspalt. Die Querkerbe hat eine durchaus passive Rolle.

Das Schicksal der Chromosomen bei der ersten und zweiten Reifungsteilung entspricht also den Vorgängen bei typischen Mitosen vollständig, nur daß immer zwei Elemente (bivalente Elemente) gemeinsam die mitotischen Prozesse durchmachen (s. auch Boveri 1904). Beide Reifungsteilungen sind Längsteilungen, wenigstens habe ich keine Anhaltspunkte für die Auffassung gewonnen, daß die primäre Längsspaltung als eine Parallelkonjugation (Parasyndese) zu betrachten ist.

Wie lassen sich diese Ergebnisse mit früheren z. T. ganz anders lautenden Angaben der Autoren über die Reifungsteilungen bei den Cyclopiden vereinigen?

Rückert (1894a) ist zu dem Ergebnis gekommen, daß bei *Cyclops strenuus* die erste Reifungsteilung eine longitudinale Teilung, die zweite Reifungsteilung eine transversale Teilung sei. Wie nun aber aus einer Betrachtung der Figuren seiner ersten Arbeit deutlich hervorgeht, ist Rückert über das Stadium der biserialen Anordnung (Metaphase I) überhaupt nicht hinausgekommen. Dies ist nicht weiter verwunderlich, denn er hat nur Ovidukteier untersucht, in denen ja die Stadien der Reifungsteilungen nicht zu finden sind (vgl. S. 83). In der zweiten Arbeit (1894b)

kommt Rückert zum gleichen Ergebnis. Er bildet hier auch eine Meta- und Anaphase II von *Cyclops strenuus* ab, gibt jedoch bezüglich der zweiten Reifungsteilung zu, daß möglicherweise eine zweite Längsspaltung übersehen worden sein könnte. Dies ist nun in der Tat der Fall. Auch die zweite Reifungsteilung ist wie die erste eine longitudinale Teilung.

Auch Lerat hat das Rückertsche Objekt, den *Cyclops strenuus*, untersucht. Beide Reifungsteilungen erfolgen nach Lerat (1905) im Ovidukt. Den Beweis hierfür ist er jedoch schuldig geblieben. Auch er ist, wie auch Häcker (1907, S. 89—90) betont, über das Stadium der biserialen Anordnung nicht hinausgekommen, weil er nur Ovidukteier auf Reifungsstadien hin untersucht hat. Wenn nun auch Lerat seine Ausführungen über den Charakter der Reifungsteilungen nicht mit Abbildungen dieser Stadien belegen konnte, so hat er doch das Richtige getroffen: «Les chromosomes-filles II sont les moitiés longitudinales des chromosomes-filles I» (Grégoire 1905). Der einzige Autor, welcher bei einem Cyclopiden, dem *Cyclops viridis* (*brevicornis* Claus), eine genaue Schilderung der Vorgänge bei den Reifungsteilungen zu geben im Stande war, ist Häcker (1895c, 1902), denn er hat die Eier kurz nach der Ablage untersucht (vgl. S. 83). Bezüglich der tatsächlichen Befunde stimme ich mit Häcker überein, aber ich muß die Bilder auf Grund meiner Erfahrungen bei andern Cyclopiden in andrer Weise deuten. Die gegenteiligen Angaben von Häcker sind darauf zurückzuführen, daß der durch große und schöne Chromosomen ausgezeichnete *Cyclops viridis* einige Komplikationen aufweist (Auftreten von X- und Hförmigen Chromosomen [Textfig. 24], Verhalten dieser Chromosomen in dem Rk I [S. 84 und Fig. 20—23]), die eine Deutung im Sinne Häckers möglich erscheinen ließen.

Sidorow (1905) hat sich in einer mir nicht zugänglich gewesenen Mitteilung, »die zweite Karyokinese von *Cyclops strenuus* und die Rolle des zweiten Richtungskörpers während der Befruchtung und Fragmentierung«, dahin ausgesprochen, daß die Chromosomen in den Reifungsteilungen einer doppelten Längsspaltung unterliegen. Dies stimmt mit meinen Ergebnissen (s. S. 86) überein.

2. *Diaptomus* und *Heterocope*

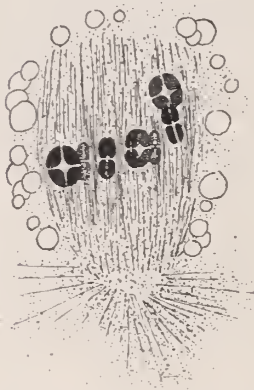
Wie wir schon gesehen haben, steigt bei *Diaptomus* und *Heterocope* das »sekundäre Keimbläschen« mit der biserialen Anordnung meist schon kurz vor der Eiablage, also noch im Ovidukt, an die Eioberfläche empor. Wenn man die biseriale Anordnung von der Seite betrachtet, so erscheinen die Chromosomen als viergeteilte Ringe bzw. als Viererkugeln (Fig. 58a,

89a, 91, 109, Textfig. 20). Von oben dagegen sieht man sehr deutlich, daß jeder Halbring eine Tetrade (Fig. 58b, 89b), also jeder Ring eine Ditetrade ist. Es sind also die Ringe bzw. Viererkugeln von *Diaptomus* und *Heterocope* den Doppelstäbchen von *Cyclops* homolog. Dies wird auch durch ihr Verhalten in den Reifungsteilungen bestätigt.

Als Beispiel für den Verlauf der Reifungsteilungen sollen die Verhältnisse bei *Diaptomus castor* dienen.

Wie bei *Cyclops*, beginnt auch hier die Anaphase I damit, daß das sekundäre Keimbläschen sich ein wenig über die Eioberfläche vorwölbt und daß die Ditetraden (Ringe) sich längs des primären Längsspaltes in die Tetraden (Halbringe) zerlegen. Im einzelnen verläuft der Vorgang folgendermaßen. Die rundlichen Ringe der biserialen Anordnung ziehen sich in der Richtung nach den Spindelpolen hin in die Länge, so daß ovale Ringe entstehen (Fig. 91). Sodann erfolgt die Trennung jedes Rings in zwei Halbringe, die in entgegengesetzten Richtungen nach den Polen hin auseinandergezogen werden (Fig. 92 u. 93).

Textfig. 20.



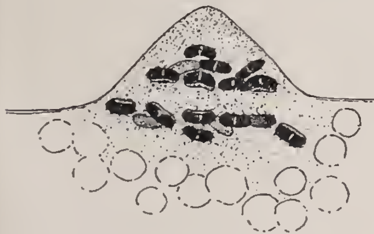
Biseriale Anordnung von *Heterocope weismanni*. Ausgetretenes Ei.

Da es sehr wahrscheinlich ist (vgl. S. 76), daß jenes Paar korrespondierender Kerben, das in der Äquatorialebene liegt und nach welchem sich die Zerlegung der Ringe in die Halbringe der Anaphase vollzog, dem primären Längsspalt entspricht, so hätte man die erste Reifungsteilung als Längsteilung zu betrachten. Dies stimmt mit unsern Erfahrungen bei *Cyclops* überein.

Genau wie bei *Cyclops*, erfolgt auch die Bildung und Abschnürung des Rk I. In Fig. 94 ist eine schon weit fortgeschrittene Anaphase I, wie sie sich von oben darstellt, abgebildet. Man sieht oben den Rk I sich deutlich gegen die im Ei verbleibende Chromosomenplatte abheben. Die Chromosomen sind hier wie dort Tetraden. Sie sind sowohl in dem Rk I als auch im Eikern in der Zahl 17 vorhanden. Wenn der Rk I ganz abgeschnürt ist (Fig. 95), haben sich die Tetraden des Eikerns geradegestreckt, so daß sie nunmehr in voller Größe sichtbar werden. Später erfolgt diese Streckung auch in dem Rk I. In beiden Fällen (vgl. Fig. 95 u. 96) ist dann die Zahl der Tetraden mit aller Sicherheit — je 17 — festzustellen. Wie bei *Cyclops*, beginnen auch hier die im Eikern verbliebenen Vierergruppen

eine Drehung um ihre lange Achse um 90° zu vollführen. Sie stellen sich zuletzt so ein, daß der »sekundäre« Längsspalt aller in die Äquatorebene der zweiten Richtungsspindel zu liegen kommt (Fig. 96). Auch die zweite Reifungsteilung verläuft genau wie bei *Cyclops*. Der »sekundäre« Längsspalt erweitert sich allmählich (Fig. 97), und die Spalthälften rücken auseinander (Fig. 98). Nunmehr beginnt auch die tonnenförmige zweite Richtungsspindel sich zu verlängern und schlanker zu werden (Fig. 99). Dadurch werden die Chromosomen dicht aneinandergedrängt. Wie bei *Cyclops*, kann nun der Rk II im Ei bleiben (Fig. 101) oder aus dem Ei herausgedrängt werden (Fig. 100), wobei häufig eine winklige Knickung der zweiten Richtungsspindel zu beobachten ist. Das weitere Schicksal des Eikerns und des Rk ist das nämliche, wie es schon bei *Cyclops* be-

Textfig. 21.



Anaphase I von *H. weismanni*.

Textfig. 22.



Anaphase I von *H. weismanni*. Bildung des Rk. I.

schrieben wurde, und ich verweise auf die Ausführungen S. 85. Der Rk I geht bei *Diaptomus* rasch seinem Untergang entgegen und ist in späteren Stadien nur noch hie und da als kleines Chromatinklümpchen zwischen den Furchungskugeln zu sehen.

Heterocope bietet, was den Verlauf der Reifungsteilungen anbelangt, den Verhältnissen bei *Diaptomus* gegenüber nichts Neues. Ich verweise auf die Textfig. 20—22, aus denen die völlige Übereinstimmung mit *Diaptomus* zur Genüge hervorgeht.

Wie bei *Cyclops*, sind auch bei *Diaptomus* und *Heterocope* beide Reifungsteilungen (unter der Voraussetzung, daß der primäre Längsspalt, wie es meine Bilder sehr wahrscheinlich machen, ein wirklicher Längsspalt ist) Längsteilungen. Die Chromosomen werden (äußerlich betrachtet) in Teile gleicher Beschaffenheit halbiert.

Ishikawa (1891) ist bei seiner Untersuchung über die Reifungsteilungen bei einer japanischen *Diaptomus*-Spezies zu ganz andern Resultaten gekommen. Er schreibt beiden Reifungsteilungen den Charakter von echten

Reduktionsteilungen zu. Schon RÜCKERT (1894a, 1894b) hat darauf hingewiesen, daß die Darstellung ISHIKAWAS offenbare Irrtümer aufweist. Ich schließe mich dieser Kritik auf Grund meiner Befunde bei *Diaptomus* an. RÜCKERT (1894a) hat nun gefunden, daß bei *Diaptomus* und *Heterocope* die erste Reifungsteilung eine Äquationsteilung (Längsteilung), die zweite Reifungsteilung eine Reduktionsteilung (Querteilung) sei. Demgegenüber ist zu bemerken, daß wie bei *Cyclops*, so auch bei *Diaptomus* und *Heterocope* sich die Stadien der Polocytenbildung nur in abgelegten Eiern finden. RÜCKERT hat aber ausschließlich Ovidukteier untersucht und hat bei *Heterocope* nicht einmal die biseriale Anordnung gesehen. Er hat deshalb, wie bei *Cyclops*, so auch bei *Diaptomus* und *Heterocope* den »sekundären« Längsspalt nicht gefunden und ist so zu dem Resultat gelangt, daß nach Analogie mit andern Objekten die zweite Teilung eine Reduktionsteilung sei, weil sie nach der Querkerbe erfolge.

Aus meinen Untersuchungen geht aber hervor, daß auch die zweite Reifungsteilung eine longitudinale Teilung ist.

3. *Canthocamptus* und *Cyclops phaleratus*.

Ganz im Gegensatz zu *Cyclops*, *Diaptomus* und *Heterocope* findet man bei *Canthocamptus* und *Cyclops phaleratus* das sekundäre Keimbläschen mit der biserialen Anordnung auch bei ausgetretenen Eiern nie an der Oberfläche, sondern in der Tiefe des Eis, und hier spielen sich auch alle Vorgänge bis zur Anaphase II ab.

a) *Canthocamptus*.

Wie wir schon gesehen haben, sind auch bei *Canthocamptus* die Chromosomen der biserialen Anordnung längsgespaltene, andeutungswsise quergekerbte Stäbchen, die sich paarweise in zwei Reihen gegenüberstehen (Doppelstäbchen, Ditetraden) (Fig. 47). Von der Seite sieht jede Tetradengruppe wie eine gerade dunkle Linie aus (Fig. 47b). Der Beginn der Anaphase I ist dadurch gekennzeichnet, daß diese beiden Linien auseinanderrücken und das sekundäre Keimbläschen sich vergrößert und nach den Polen zu in die Länge zieht. Gleichzeitig tritt auch die charakteristische Längsstreifung des Bläschens auf, die für die erste Richtungsspindel bei den Copepoden so charakteristisch ist. Wenn die Anaphase I ihren Höhepunkt erreicht hat (Fig. 48), tritt in der mittleren Partie der ersten Richtungsspindel eine Art Scheidewandbildung hervor, und dort ist die Spindel sanduhrförmig eingeschnürt. Die eine Hälfte der Spindel stellt den Rk I, die andre Hälfte den Eikern vor. Beide gleichen sich so vollkommen, daß

eine Entscheidung darüber, welche Hälfte nun gerade der Rk oder welche der Anteil des Eikerns ist, nicht gefällt werden kann. Bei einer Ansicht dieser zweiteiligen Figur von oben (Fig. 48a) sieht man, daß in jeder Platte zwölf Tetraden liegen. Im Vergleich zu denen der biserialen Anordnung sind sie kürzer und stärker gefärbt. Auch die Querkerbe ist deutlicher geworden. Der Übergang zur Metaphase II ist in Fig. 49 dargestellt. Sowohl in dem Rk I als auch im Eikern beginnen die Tetraden sich um ihre lange Achse um 90° zu drehen. Fig. 50 zeigt diesen Vorgang vollendet. Man sieht, daß sich die Tetraden in beiden Hälften des sanduhrförmig eingeschnürten Bläschens — der nunmehrigen doppelten zweiten Richtungsspindel oder doppelten Metaphase II — so eingestellt haben, daß der »sekundäre« Längsspalt aller in der Äquatorebene ihrer zugehörigen zweiten Richtungsspindel liegt (Fig. 50b). Von oben (Fig. 50a) sieht man deshalb sowohl in dem Rk I als auch im Eikern die Tetraden als quergekerbte Stäbchen, je zwölf an der Zahl. Nunmehr macht der Rk I gleichzeitig mit dem Eikern die zweite Reifungsteilung durch. In der schon bei *Cyclops* und *Diaptomus* geschilderten Weise trennen sich in der Anaphase II die durch den sekundären Längsspalt gebildeten Spalthälften der Tetraden voneinander (Fig. 51) und weichen nach den Polen zu auseinander (Fig. 52), so daß die bekannten vierteilig-symmetrischen Kernteilungsfiguren entstehen, die Häcker (1895b) schon bei *Canthocamptus* beschrieben hat und die auch bei Insekten (Ameisen, Blattwespen usw.) vorkommen. Betrachtet man eine solche vierteilige Figur von schräg oben (Fig. 52a), so sieht man in jeder der vier Platten je zwölf Chromosomen. Jede Platte ist gegen die andre durch eine Scheidewand abgegrenzt und liegt also für sich in einem flachen Bläschen (Fig. 52b). Meist sind zwei Bläschen kleiner als die beiden andern und so deutlicher von ihnen abgesetzt. Erstere (Fig. 52b, bei $p_1 p_2$) stellen die Teilungsprodukte des Rk I dar, letztere dagegen den Rk II (Fig. 52b, bei p_2) und den Eikern (Fig. 52b, bei *e*). Während dieses Stadiums steigt die vierteilige Figur zur Oberfläche des Eis empor, und hier werden die drei Richtungskörper zu einem kompakten Körper vereinigt, wie es schon Häcker (1895) beschrieben hat (Fig. 53). Dieser Körper scheint sich während der Furchung geradeso zu verhalten wie der Rk II bei *Cyclops* und *Diaptomus*.

b) *Cyclops phaleratus*.

Die Reifungsteilungen verlaufen bei *Cyclops phaleratus* im Prinzip geradeso wie bei *Canthocamptus*, sind aber in mancher Hinsicht diesem gegenüber ausgezeichnet. So gleichen die Ditetraden der biserialen Anordnung den Ditetraden der meisten andern Cyclopiden und nicht denen

von *Canthocamptus* (vgl. Fig. 41 mit Fig. 47.) Es ist ein Heterochromosom (vgl. S. 57) vorhanden, das sich in den Reifungsteilungen anders verhält als die Ditetraden. Die Zahlenverhältnisse sind noch günstiger als bei *Canthocamptus*, es sind neben dem Heterochromosom nur sechs Ditetraden zu finden (Fig. 41).

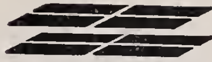
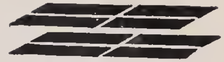
Schon in der biserialen Anordnung stellt sich das Heterochromosom (*h*), das weder Längsspalt noch Querkerbe zeigt, so ein, daß es genau in einer Tetradenplatte liegt. Es scheint vom Zufall abhängig zu sein, in welche Platte es gelangt. Bei der Anaphase I wandert das Heterochromosom mit der zugehörigen Tetradenplatte ungeteilt nach dem einen Pol, die andre Platte nach dem andern Pol (Fig. 42). Es ist also entweder im Richtungskörperanteil oder im Eikernanteil der zweiteiligen symmetrischen Figur (Anaphase I — Metaphase II) neben den sechs Tetraden noch das Heterochromosom (*h*) zu finden. Wie bei *Canthocamptus*, drehen sich nun in dem Rk I und im Eikern gleichzeitig die Tetraden um ihre lange Achse um 90° und stellen sich so in die Äquatorialplatte der zweiten Richtungsspindel (Metaphase II) ein, daß der sekundäre Längsspalt der Tetraden in der zugehörigen Äquatorebene liegt (Fig. 43). Gleichzeitig wird an dem Heterochromosom (*h*) ein Spalt sichtbar, der wohl ein Längsspalt ist. Nunmehr macht der Rk I gleichzeitig mit dem Eikern die zweite Reifungsteilung durch, so daß auch hier jene vierteilig-symmetrischen Kernteilungsfiguren entstehen, die wir bei *Canthocamptus* schon kennen lernten. Die Fig. 44 bis 45 zeigen dies deutlich. Das Heterochromosom, das sich in der Metaphase II (vgl. oben) durch das Auftreten eines Spaltes auf die zweite Reifungsteilung vorbereitete, hat sich in dieser auch tatsächlich geteilt, so daß immer zwei von den vier Chromosomenplatten der vierteilig-symmetrischen Kernteilungsfigur neben den bekannten quergekerbten Stäbchen noch eine Spalthälfte des Heterochromosoms (*h*) enthalten (Fig. 45a). Wie nun auch schon aus dem Verhalten des Heterochromosoms bei der ersten Reifungsteilung hervorgeht, sind zwei Fälle möglich. Es haben Eikern und Rk II die Spalthälften des Heterochromosoms erhalten oder das Heterochromosom hat sich auf die zwei Abkömmlinge des Rk I verteilt. Beide Fälle habe ich bei *Cyclops phaleratus* gefunden. Wie bei *Canthocamptus*, werden auch hier die drei Richtungskörper zu einem einzigen Richtungskörper vereinigt (Fig. 46).

Zusammenfassung über die Reifungsteilungen bei den Copepoden.

Beide Reifungsteilungen erfolgen bei sämtlichen untersuchten Copepoden im ausgetretenen Ei.

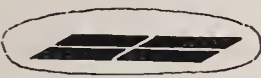
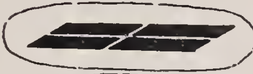
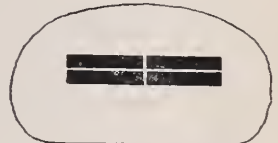
Textfig. 23.



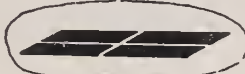



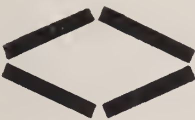
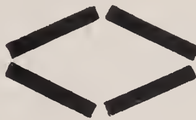


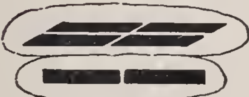
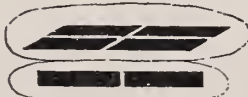


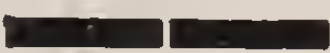





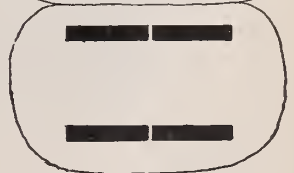






Schematische Darstellung des Verlaufs der Reifungsteilungen bei *Heterocope* und *Diaptomus* (1. Vertik.-Reihe), *Cyclops* ausgenommen *Cyclops phaleratus*) (2. Vertik.-Reihe), *Canthocamptus* und *Cyclops phaleratus* (3. Vertik.-Reihe).

Sowohl die erste als auch die zweite Reifungsteilung sind Längsteilungen, wie bei typischen Mitosen, nur daß immer zwei Elemente (bivalente Elemente) gemeinsam die mitotischen Vorgänge mitmachen.

In der ersten Reifungsteilung werden bei *Cyclops* und *Canthocamptus* die Einzelstäbchen der Doppelstäbchen voneinander getrennt, bei *Diaptomus* und *Heterocope* die vierteiligen Ringe bzw. Viererkugeln halbiert.

In der zweiten Reifungsteilung erfolgt das Auseinanderweichen und die Verteilung der durch die sekundäre Längsteilung gebildeten Spalthälften.

Das beiliegende Schema (Textfig. 23) über die Reifungsteilungen von *Diaptomus* und *Heterocope*, *Cyclops* und *Canthocamptus* sowie *Cyclops phaleratus* soll zeigen:

1. daß den verschiedenen Chromosomenformen der Copepoden der nämliche Bauplan zugrunde liegt,

2. daß der Modus der Reifungsteilungen prinzipiell der gleiche ist.

Allgemeiner Teil.

Es möge mir nun gestattet sein, den Blick von dem eigenen engeren Arbeitsgebiet aus auch auf fremde Arbeitsgebiete zu richten und zugleich zu einigen Fragen allgemeiner Natur Stellung zu nehmen.

I.

Die Synapsis.

Einen breiten Raum in der Diskussion kerngeschichtlicher Phänomene nimmt zurzeit die Synapsis ein.

Wir haben bei der Besprechung der morphologischen Verhältnisse im speziellen Teil (S. 62—64) gesehen, daß insbesondere die einleitenden Phasen der Synapsis den einleitenden Phasen typischer Mitosen, wie man sie bei Gewebs- und Furchungskernen bei den Copepoden findet, durchaus ähnlich sind. Doch auch die andern Stadien bieten eigentlich keine Abweichung von dem Schema, das Flemming (1879) für die Kernteilung aufgestellt hat, dar. Es kommt nämlich zuerst zur Bildung eines dünnfadigen und dann zur Ausbildung eines dickfadigen Knäuels. Letzterer ist in Segmente zerlegt. Auffallend ist dagegen die einseitige Lagerung des Chromatinknäuels, und in diesem Punkt allein ist die Abweichung von typischen Verhältnissen wesentlich.

Soweit die rein morphologischen Befunde.

Wie sind sie zu deuten?

Soviel ich sehe, sind zurzeit hauptsächlich fünf Hauptansichten über die Bedeutung der Synapsis zur Erörterung gestellt.

1. Nach einer ersten Anschauung findet in der Synapsis eine Konjugation der Chromosomen statt. Von Winiwarter hat als erster (1900) diese Ansicht geäußert, und zwar in dem Sinne, daß die mutmaßliche Konjugation »längsweise« erfolge (accolement, juxtaposition, Parasyndese nach Häcker [1907]). Ihm schlossen sich zahlreiche Autoren an.

2. Montgomery u. a. glauben ebenfalls an eine Konjugation je zweier Chromosomen während der Synapsis, nehmen aber eine »endweise« Konjugation der Chromosomen an (conjugation end to end, Metasyndese nach Häcker [1907]; Faltungstheorie).

3. Nach einer weiteren Ansicht, die von Goldschmidt (1908a) geäußert wurde, wäre die Synapsis als ein Stadium aufzufassen, in dem die Ausarbeitung der Vererbungssubstanzen geschieht durch Trennung des Idiochromatins vom Trophochromatin.

4. Ein vierter Weg wurde von R. Hertwig (1906, 1907 u. 1908) eingeschlagen und von Popoff (1907a, b; 1908) und Wassilieff (1907) weiter verfolgt. Diese Autoren sehen in der Synapsis eine unterdrückte Teilung und bringen sie mit der Lehre von der Kernplasmarelation in Verbindung.

Nicht unerwähnt soll hier bleiben, daß Woltereck den Gedanken, daß die Synapsis eine unterdrückte Teilung ist, schon 1898 ausgesprochen hat. Auch Giardina (1902) möchte die »Sinapsi differenziale« für eine unterdrückte Kernteilung ansehen.

Auch Häcker (1895) und Paulke (1900) haben die Synapsis mit Kernteilungsvorgängen in Verbindung gebracht.

5. Eine letzte Ansicht wird von den Forschern verfochten, welche bei ihren Objekten keine synaptischen Stadien, d. h. keine Stadien mit einseitig zusammengezogenem Kerngerüst oder einseitig gelagertem Knäuel gefunden haben. Sie halten die Synapsis mehr oder weniger für ein Kunstprodukt (s. die Zusammenstellung von Häcker [1907], sowie neuere Angaben von Meves [1907], Duesberg [1907] u. a.) und schreiben deshalb der Synapsis keine besondere Bedeutung zu.

Die Gründe, welche gegen die an erster Stelle aufgeführte Theorie der Chromosomenpaarung in der Synapsis sprechen, sind schon so oft hervorgeboben worden (Fick [1905, 1908a, 1908b], Häcker [1907], Goldschmidt [1908b], Meves [1907]), daß dieser Hinweis genügen würde. Da aber Lerat (1905) für *Cyclops strenuus* die parallele Konjugation der Chromosomen in der Synapsis angenommen hat, möchte ich doch in Kürze meine Einwände, die ich dagegen zu machen habe, vorbringen.

Die Kerne, welche LERAT zur Bestätigung seiner Ansicht abbildet, lassen lediglich erkennen, daß eine Längsspaltung der Chromatinfäden im Stadium der *Noyaux synaptènes* vorliegt.

Seine Behauptung, daß die »filaments minces« unvermittelt in die »filaments épaisses« übergehen und daß also die dicken Fäden nur durch Konjugation zweier dünner entstanden sein können, trifft nicht zu. Es ist vielmehr auch bei *Cyclops strenuus* ein allmählicher Übergang des dünnfadigen in den dickfadigen Knäuel und ein allmähliches Auftreten des Längsspalts zu konstatieren. Auch die allerdings nur vereinzelten Befunde über »reduzierte« Chromosomenzahl in Oogonienteilungen (s. S. 00) sind unvereinbar mit der von LERAT angenommenen Theorie der synaptischen parallelen Konjugation in der Synapsis. Alles in allem ist nach meinen Befunden die im dickfadigen Stadium auftretende longitudinale Teilung des Fadens eine wirkliche Längsteilung, wie das schon HÄCKER (1892) für *Canthocamptus staphylinus* gezeigt hat. Daraus würde ferner hervorgehen, daß ich auch für die von MONTGOMERY u. a. vertretene »Faltungstheorie« bei den Copepoden keine Stütze finden konnte.

Der dritten Anschauung über die Bedeutung der Synapsis kann ich nicht beitreten, denn keine meiner Beobachtungen weist darauf hin, daß eine von GOLDSCHMIDT vermutete Trennung des Idiochromatins vom Trophochromatin hier zustande kommt. Auch scheinen mir die Fälle, wo keine Synapsis beobachtet wurde oder wo synaptische Zustände außerhalb der Keimbahn sich finden (MARCUS 1908 z. B.) der Theorie erhebliche Schwierigkeiten zu bereiten.

Auch der vierten Anschauung über das Wesen der Synapsis scheinen mir, wenigstens in der Form, wie sie geäußert wurde, noch einige Bedenken gegenüberzustehen. Es ist ja gewiß, daß auf den ersten Blick auch bei den Copepoden die Zusammendrängung des Chromatins den Gedanken an eine unterdrückte Kernteilung plausibel erscheinen läßt. Andrerseits aber muß ich immer wieder betonen, daß das Chromatin eben im wesentlichen die Veränderungen durchmacht, welche auch bei gewöhnlichen Mitosen vom »ruhenden« Kern zur Ausbildung eines segmentierten Knäuels führen. Deshalb nähere ich mich auch der Auffassung, die an letzter Stelle aufgeführt wurde, wonach der Synapsis keine besondere Bedentung zugeschrieben werden kann.

Von verschiedener Seite wurde auch schon versucht, über die besonderen Bedingungen, welche die Synapsis hervorrufen, ins klare zu kommen.

So nimmt SCHÖNFELD an (1900), daß die Anziehung der Centrosomen

am Zustandekommen der Synapsis beteiligt sei. Ich konnte aber ebensowenig wie LERAT (1905) in diesem Stadium Centrosomen finden, so daß eine Wirkung der Centrosomen im Sinne SCHÖNFELDS nicht wahrscheinlich ist.

POPOFF (1907, 1908) konnte bei *Paludina vivipara* während der Synapsis eine starke Volumzunahme der Kerne feststellen. Er nimmt an, daß diese Zunahme durch Wasseraufnahme erfolgt. Dabei auftretende osmotische Strömungen würden dann die einseitige Zusammenballung der chromatischen Substanz bedingen. Da bei den Copepodon das Kernwachstum während der Synapsis kaum nennenswert ist, so würde es hier an der Voraussetzung zu der oben erwähnten Hypothese fehlen. Immerhin möchte ich, da ich auf diesen Punkt nicht von Anfang an mein Augenmerk richtete, kein abschließendes Urteil fällen.

HÄCKER (1907) kommt zu Anschauungen, die sich wenigstens z. T. mit denen POPOFFS berühren. Er sagt S. 82: »Danach würden es besondere diosmotische Eigentümlichkeiten der Kernmembran oder auch vorübergehende Zustände der Kernsubstanzen selber sein, welche bei Einwirkungen von Reagentien oder auch bei unnatürlichen Veränderungen des Gewebsturgors eine plasmolytische Kontraktion des Kerninhalts bedingen«. Diese Fassung des Problems stimmt noch am ehesten mit den Erfahrungen überein, die ich bei den Copepoden machte. Da eine Beobachtung am lebenden Gewebe nicht anging, wurde die Einwirkung der verschiedenen Konservierungsmittel bei stärkerer und schwächerer Konzentration, schneller und langsamer Einwirkung untersucht. Es hat sich durchweg gezeigt, daß bei mangelhafter Konservierung (bei zu starker oder zu schwacher Konzentration, bei zu starker Erwärmung des Fixierungsgemisches, bei Alkoholkonservierung) die synaptischen Stadien sehr zahlreich sind. Bei vorsichtiger Konservierung gelang es, diese Stadien auf eine schmale Zone zu reduzieren. Ganz zum Schwinden konnte die Synapsis nie gebracht werden.

II.
Die Reduktionsfrage.

Eine andre Erscheinung, welche die Diskussion beherrscht, ist die Zahlenreduktion der Chromosomen. Theoretisch könnte eine solche erfolgen auf dem Wege einer Früh- oder einer Spätreduktion (FICK 1907). Im ersten Fall sind die Chromosomen, schon ehe sie sich in die erste Richtungsspindel einstellen, in reduzierter Zahl vorhanden, im zweiten Fall sind die Chromosomen noch in der ersten Richtungsspindel in der Normalzahl vorhanden, und die Zahlenreduktion erfolgt während der Reifungsteilungen. (CARNOYScher Reifungstypus nach FICK; eigentliche Reduktionsteilung nach WEISMANN [1887]).

Zwei Beobachtungsreihen scheinen mir bei den Copepoden für eine Frühreduktion zu sprechen: 1. die Bilder, welche darauf hinweisen, daß der I. Längsspalt ein wirklicher Längsspalt ist; 2. die allerdings nur isolierten Befunde, wonach schon in den oogonialen Teilungen die halbe Chromosomenzahl auftritt (S. 59 u. 61).

Bei der Frühreduktion kann, wiederum theoretisch betrachtet, die numerische Reduktion der Chromosomenzahl erfolgen

1. durch Absorption oder Atrophie der Hälfte der Chromosomen (Boveri, 1892).
2. durch Bildung bivalenter Elemente oder Doppelchromosomen. Dies kann geschehen:
   a) durch paarweises Aneinanderlegen der Chromosomen der Länge nach (accolement, juxtapposition, Parasyndese nach Häcker 1907, S. 74);
   b) durch paarweises Aneinanderlegen der Chromosomen hintereinander (conjugation end-to-end, Metasyndese nach Häcker 1907, S. 74);
   c) durch Ausbleiben eines letzten Querteilungsschrittes (Scheinreduktion Häcker; Pseudoreduktion Rückert);
   d) durch vollkommene Verschmelzung je zweier Chromosomen in den Prophasen der ersten Teilung oder noch früher (vgl. Boveri 1904, S. 78).

Daß die Reduktion durch Absorption von Chromosomen erfolgt wäre, ist wenig wahrscheinlich. Seitdem Boveri (1892) diesen Gedanken geäußert hat, ist von keiner Seite her irgend etwas bekannt geworden, was als Stütze dafür angesehen werden könnte, und speziell bei den Copepoden liegen keine einschlägigen Beobachtungen vor.

Daß ferner eine Konjugation der Chromosomen in der Synapsis — sei es »längsweise« oder »endweise« — wenig wahrscheinlich ist, habe ich schon S. 95 hervorgehoben. Die Querkerbe, welche man bei den Copepoden mit so großer Regelmäßigkeit an den Chromosomen der späten Diakinese und Reifungsteilungen findet, kann ja zunächst noch ebensogut als Zeichen für eine Konjugation der Chromosomen »end-to-end« wie für die »Pseudoreduktion« (Rückert, Häcker) in Anspruch genommen werden. Es scheint mir aber der Vorgang, daß der Chromatinknäuel statt in die »normale« Zahl von Chromosomen sich nur in die »halbe« Zahl segmentiert, mit unsren Gesamtanschauungen über die Chromosomenbildung viel eher vereinbar zu sein als ein aktives sich Suchen und Auffinden von Chromosomen, wie es die Konjugationshypothese in der andern Fassung verlangt. Daß einzelne Chromosomen in engerem Verband bleiben können,

wurde ja auch schon in Gewebs- und Furchungszellen beobachtet (vgl. HÄCKER, 1907, S. 111).

Da nun das regelmäßige Auftreten der Querkerbe in den Prophasen I auch gegen eine vollkommene Verschmelzung je zweier Chromosomen (vgl. oben 2d) spricht, so kommt man schließlich zu folgender Auffassung:

Die wirkliche numerische Reduktion der Chromosomen erfolgt, wie ich mit RÜCKERT, HÄCKER und VOM RATH annehmen möchte, bei den Copepoden durch unvollkommene Segmentierung des Chromatinfadens, indem der letzte Querteilungsprozeß unterbleibt oder nicht ganz durchgeführt wird und so zweiwertige oder bivalente Segmente entstehen. (Pseudoreduktion RÜCKERT, Scheinreduktion HÄCKER).

Wann erfolgt nun bei den Copepoden die Bildung der bivalenten Elemente und damit die numerische Reduktion?

Eine präzise Antwort auf diese Frage kann ich nicht geben, denn auch die Befunde über »reduzierte« Chromosomenzahl in oogonialen Phasen (s. S. 59 u. S. 61) stellen uns lediglich vor die vollzogene Tatsache der Zahlenreduktion, und außerdem sind sie noch zu sparsam, als daß sie uns eine genügende Handhabe geben könnten.

Auch der Frage, warum bivalente Elemente gebildet werden, ist man schon näher getreten. RÜCKERT (1894b) und BOVERI (1904) sind der Ansicht, daß die Erscheinung mit dem Mechanismus der Reduktionsteilung in Verbindung steht. Diese Auffassung kann natürlich nur dann Gültigkeit haben, wenn wirklich Reduktionsteilungen nachgewiesen werden können, und da nach meiner Ansicht bei den Copepoden Reduktionsteilungen im ursprünglichen WEISMANNschen Sinne nicht existieren, so liegt es vielleicht nahe, dieser mehr finalen Erklärung eine rein kausale zur Seite zu stellen. In einer »Theorie der Syndesis« hat HÄCKER (1907, S. 113 u. ff.) versucht, die Bildung bivalenter Elemente (»regelmäßige Syndesis«) als einen Spezialfall weit verbreiteter Chromosomenverkettungen (»kontinuierliche Spireme«, »unregelmäßige Chromosomenverkettungen«) darzustellen, und so wird man vielleicht berechtigt sein, diejenige Bildung bivalenter Elemente, welche zu Beginn oder noch vor der Reifungsperiode zur endgültigen numerischen Reduktion führt, ihrem Ursprung nach ebenfalls auf eine solche Chromosomenverkettung zurückzuführen.

III.
Das Keimbläschen.

Eine charakteristische Erscheinung der Wachstumsphase ist das Keimbläschenstadium im strengen Sinne des Wortes, nämlich die-

jenige Phase der Wachstumsperiode, in welcher die Färbbarkeit der Chromatinelemente in charakteristischer Weise verringert wird.

1. Wie schon im speziellen Teil gezeigt werden konnte, ist das Aussehen dieses Stadiums ein sehr verschiedenes. Bei einigen Objekten (*Heterocope saliens*, *Cyclops gracilis* u. a.) konnten die Chromosomen während des Keimbläschenstadiums noch zur Not als längsgespaltene Fadensegmente erkannt werden. Bei andern (*Cyclops phaleratus* z. B.) sind die Chromosomen während dieser Phase nur noch verwaschene Flecken (Fig. 35) oder aber, wie bei *Diaptomus salinus*, lange Stränge, welche in vielen Windungen scheinbar regellos den Kern durchziehen (Fig. 59—61) oder, wie bei *Cyclops viridis*, in allerfeinste Fäden ausgesponnen sind (Fig. 27—28). Es kommt auch vor, daß scheinbar alle färbbare Substanz in einem Nucleolus vereinigt ist und von Chromosomen nur noch undeutliche Spuren vorhanden sind (*Diaptomus castor*, *Diaptomus coeruleus* z. B.) (Fig. 83).

2. Fassen wir nun, nachdem wir die morphologische Ausbildung des Keimbläschenstadiums kennen gelernt haben, die Stellung ins Auge, welche es in dem Zyklus, den das Chromatin von Kernteilung zu Kernteilung durchläuft, einnimmt. Es fällt sogleich auf, daß dieses Stadium nicht wie ein gewöhnliches Kernruhestadium genau in der Mitte zwischen zwei vollständige Teilungsfolgen eingeschaltet ist, sondern zwischen Stadien, die infolge ihres ganzen Aussehens — in der frühen Diakinese Doppelfadensegmente, Doppelstäbchen, in der späten Diakinese Doppelstäbchen, Ringe usw. — als Prophasen (Reifungsprophasen) gedeutet werden müssen. Ferner entwickeln sich die Chromosomen der späten Diakinese aus dem Keimbläschenruhestadium nicht in der Weise, wie es nach dem Ruhestadium zu geschehen pflegt (Flemming 1879), aus einem engen feinfadigen und darauffolgenden lockeren grobfadigen Knäuel, sondern differenzieren sich ohne Vermittlung direkt aus dem Kerngerüst heraus. Drittens tritt an einigen günstigen Objekten (*Cyclops phaleratus*, *Diaptomus castor*), bei welchen auffallende Chromosomen (Heterochromosomen) sowohl in der frühen als auch in der späten Diakinese auftreten, besonders deutlich hervor, daß diese Heterochromosomen in derselben Form, welche sie in der frühen Diakinese hatten, trotz des dazwischenliegenden Keimbläschenruhestadiums auch in der späten Diakinese wieder auftreten. Die Ähnlichkeit geht so weit, daß die Bilder der späten Diakinese wie vergrößerte Abbilder der frühen Diakinese aussehen. (Vgl. S. 71.)

Endlich konnte für einige Fälle (*Heterocope saliens*, *Cyclops gracilis*) gezeigt werden, daß es zu einem völligen Verschwinden der Chromosomen und zur Bildung eines Keimbläschenstadiums überhaupt nicht kommt, daß vielmehr die Doppelfadensegmente der frühen Diakinese kontinuierlich

in die Doppelstäbchen bzw. Ringe der späten Diakinese übergehen (s. auch HÄCKER 1892, 1895b, LERAT 1905). Alle diese Umstände lassen es, wie ich glauben möchte, untunlich erscheinen, daß man das Keimbläschenstadium des Oocytenkerns als ein Kernruhestadium im gewöhnlichen Sinn auffaßt. Es scheint mir vielmehr aus allem hervorzugehen, daß man den ganzen Zeitraum von der Synapsis an (diese, soweit sich schon Segmente erkennen lassen, mit eingeschlossen) bis zur biserialen Anordnung als Stadium des segmentierten Knäuels betrachten kann, wenn eine solche Parallele mit einer gewöhnlichen Kernteilung überhaupt erlaubt ist. Das Keimbläschenstadium wäre dann erst »sekundär« dazwischen eingeschoben, wie HÄCKER (1893, S. 467) betont hat.

3. Gibt es eine Erklärung für die sekundäre Einschiebung des Keimbläschenstadiums?

Einzelne Autoren sind geneigt, die feine Verteilung des Chromatins im Keimbläschenstadium mit der sehr starken vegetativen Tätigkeit des Kerns in dieser Periode (Wachstum, Dotterbildung) in Verbindung zu bringen (BORN [1892], RÜCKERT [1892]). Demgegenüber sagt HÄCKER (1893, S. 486): »Der Beginn des Zellwachstums und der Dotterabscheidung ist an örtliche Verhältnisse gebunden und hat nicht einen bestimmten, zwischen Dispirem und feinfadigem Knäuel gelegenen Verteilungszustand des Chromatins und ebensowenig eine bestimmte Anordnung und Anzahl von Nucleolen zur Voraussetzung.« Auch LUBOSCH (1902, 1903) kommt nach eingehender Prüfung aller in Betracht kommender Angaben zu dem Schluß, daß das »Keimbläschenstadium« nicht Ursache, sondern Folge der Dotterbildung ist. Diese führt nämlich die neuen Bedingungen herbei, denen der Kern seine morphologischen Verhältnisse anpaßt.

Meine eigenen Untersuchungen haben gezeigt, daß ein direkter Zusammenhang zwischen dem besonderen Verhalten der färbbaren Substanz im Keimbläschenstadium und der Dotterbildung kaum angenommen werden kann. Es kann die färbbare Substanz während der Dotterbildung fein verteilt sein (*Cyclops fuscus*, *albidus* usw.) oder ist in Chromosomen (*Cyclops gracilis* z. B.) oder Nucleolen (*Diaptomus castor*, *Diaptomus coeruleus*) konzentriert. Auch Eier, welche keinen Dotter bilden, können ein Keimbläschenstadium zeigen (GOLDSCHMIDT 1908), woraus wohl am besten die relative Unabhängigkeit beider Phänomene hervorgeht.

HÄCKER hat ferner (1893) im Anschluß an seine Beobachtungen über das Keimbläschen die Ansicht ausgesprochen, daß dieses Stadium sekundär da eingeschoben wurde, wo der Übergang von der kontinuierlichen zur periodischen Eiablage stattfand, wo also eine Stauung der Geschlechtsprodukte zustande kam. Meine Beobachtungen an den Copepoden stim-

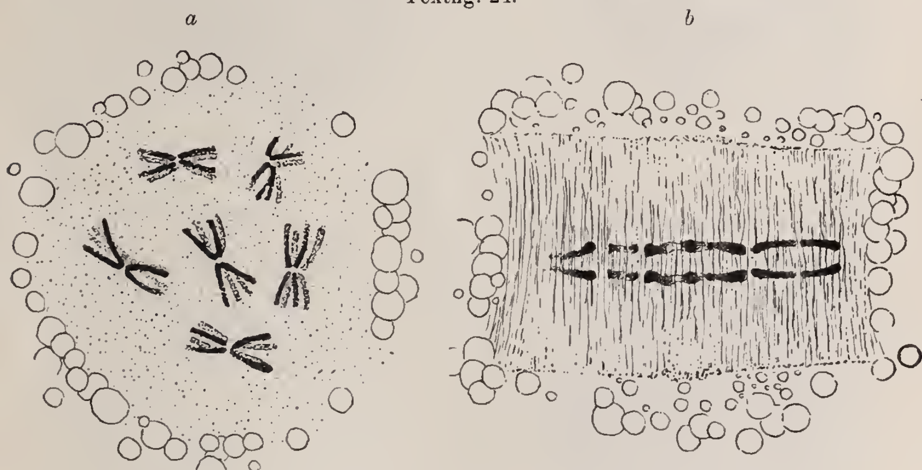
men damit wohl überein. Es hat sich nämlich gezeigt, daß bei den Objekten, wo eine Persistenz der Doppelfadensegmente auch während des Keimbläschenstadiums verfolgt werden konnte (*Cyclops gracilis*, *Heterocope saliens*, *Canthocamptus staphylinus*, Häcker [1895]), mit jeder Eiablage verhältnismäßig wenig Eier zur Ablage kommen, bei *Cyclops gracilis* 4—15, bei *Heterocope saliens* 10—26 bzw. 10—12 (s. S. 50), bei *Canthocamptus staphylinus* bis zu 20 Stück. Dafür erfolgen die Eiablagen auch ziemlich schnell nacheinander. So fand Häcker (1899, S. 95) bei *Canthocamptus staphylinus*, daß nach dem Absetzen einer Brut 4—5 Tage bis zum Absatz einer zweiten Brut vergingen.

Bei andern Copepoden dagegen, bei denen im Keimbläschenstadium die Chromosomen völlig schwinden oder nur noch in Spuren vorhanden sind (besonders *Diaptomus castor*, *Diaptomus coeruleus*, *Cyclops insignis*, *Cyclops fuscus*, *Cyclops albidus*), werden mit jeder Ablage viele Eier abgelegt. So zählte ich bei *Diaptomus castor* etwa 50, bei *Cyclops insignis* 40—60, bei *Cyclops fuscus* 30—50 und bei *Cyclops albidus* etwa ebensoviel. Zwischen den einzelnen Ablagen sind, wie ich wenigstens bei einigen dieser Formen mit Bestimmtheit beobachtete, lange, z. T. monatelange Pausen eingeschaltet, während deren das Material zur nächsten Ablage sich allmählich in den Ovidukten sammelt. Es ist nun sicher, daß im ersten Fall, wo die Periodizität der Eiablage noch nicht so ausgeprägt ist, die Eier der aufeinanderfolgenden Ablagen wenig gestaut werden, da ein Eisatz dem andern schnell Platz macht. Dagegen ist im zweiten Fall, wo für jede Ablage eine große Menge von Eiermaterial vorbereitet werden muß, eine Anstauung des Materials unvermeidlich. Die Folge ist die scheinbare Rückbildung der frühdiakinetischen Chromosomen: ich möchte sagen, der Kern sucht zu einer stabileren Stufe der Chromatinverteilung, welche an die Anordnung der Kernsubstanzen im typischen »Ruhestadium« erinnert, zurückzukehren. Die Erscheinung, daß ausgebildete Chromosomen, wenn sie aus irgend einer Ursache allzulange im teilungsbereiten Stadium verweilen müssen, sich ihres Chromatins entledigen und dabei mehr oder weniger unsichtbar werden, findet man auch sonst. Besonders beweisend scheint mir ein Fall zu sein, den ich selbst beobachtete. Es gelingt bei Copepoden—♀♀, die ihre Eier ablegen wollen, den ganzen Eisatz oder wenigstens den größten Teil desselben in den Ovidukten in unbefruchtetem Zustand zurückzuhalten, wenn man die ♀♀ bei der Ablage durch Herumhetzen beunruhigt[1]). (Schiller [1909] hat dasselbe durch Behandlung der

[1]) Ich habe diesen Versuch gemacht, um zu sehen, ob in einem solchen Fall nicht doch auch die Reifungsteilungen im Ovidukt einsetzen könnten (vgl. S. 83).

♀♀ mit Äther erzielt). Dadurch wird der Prozeß der Eireifung unterbrochen und die Chromosomen behalten die biseriale Anordnung bei. Man kann nun zunächst bemerken, daß die Ditetraden der biserialen Anordnung sich noch mehr individualisieren, indem Querkerbe, primärer und sekundärer Längsspalt noch deutlicher werden (Textfig. 24). Sodann treten aber in den Ditetraden kleine Bläschen auf (Textfig. 25), welche das dichte Gefüge derselben lockern und ihre deutlichen Umrisse verschwimmen machen. Diese kleinen und kleinsten Bläschen scheinen größere Bläschen zu bilden, so daß man am Schluß dieses Entwicklungsganges, statt einer biserialen Anordnung von Chromosomen, eine biseriale Anordnung von Bläschen vor

Textfig. 24.



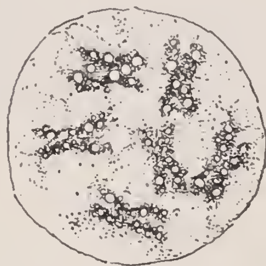
Biseriale Anordnung von *Cyclops viridis*. *a*. von oben. *b*. von der Seite.

sich hat (Textfig. 26). Zuletzt vereinigen sich die Chromosomenbläschen zu einer Art ruhendem Kern (Textfig. 27). In dieser Periode beginnen auch schon die Dottermassen der zurückgehaltenen Eier miteinander zu verschmelzen und zu unregelmäßigen Fragmenten zu zerfallen. Ferner konnte ich auch beobachten, daß die kompakten Chromosomen des Rk I sich rhizopodenartig verästeln können (vielleicht auch unter Bläschenbildung), so daß der ganze Rk I aussieht wie ein ruhender Kern (Textfig. 19).

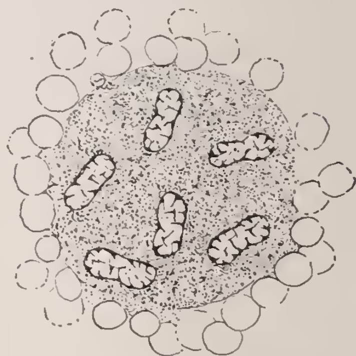
Hierher scheinen mir auch die Fälle zu gehören, in welchen zwischen erster und zweiter Reifungsteilung ein mehr oder weniger langer Zeitraum verstreicht. In allen diesen Fällen ist auch zwischen erster und zweiter Reifungsteilung ein mehr oder weniger deutlich ausgeprägtes Ruhestadium des Kerns zu finden, d. h. es wird auch hier in dem Kern eine stabilere Verteilung des Chromatins angestrebt.

Eine andre Erscheinung des Keimbläschenstadiums, nämlich die außerordentliche Größe des Keimbläschens und die starke Chromatinproduktion in diesem Stadium, haben R. Hertwig (1906, 1907, 1908) und

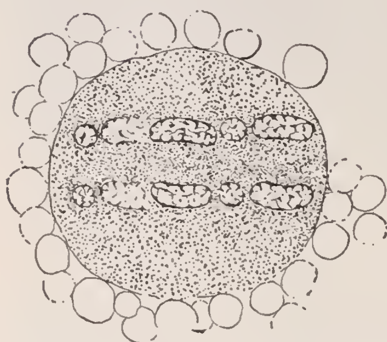
Textfig. 25.



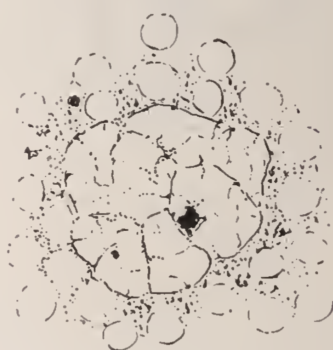
Textfig. 26 *a*.



Textfig. 26 *b*.



Textfig. 27.



Umwandlung der Ditetraden in Bläschen und Vereinignng derselben zu einer Art ruhendem Kern.

seine Schüler Popoff (1907a, 1908) und Wassilieff (1907) zu erklären versucht.

Hertwig insbesondere hat im Anschluß an seine Studien über die Kernplasma-Relation den Versuch gemacht, die Wachstumsphase der Geschlechtszellen durch einen Vergleich mit den Depressionszuständen der Protozoen verständlich zu machen. Bei diesen werden nämlich die Zeiten lebhaftester Vermehrung und Assimilation durch Zustände unterbrochen, in welchen alle Funktionen darniederliegen und der Kern abnorm vergrößert ist. Auch bei den Geschlechtszellen folgt nach Hertwig auf eine Zeit leb-

haftester Vermehrung (Vermehrungsperiode) ein Zustand der Zelle (Oocyte, Spermatocyte), in welchem die Zellteilungen völlig aufhören, also eine Art Depression. Diese wird hervorgerufen durch periodisch eintretende Kernplasmaspannungen im Gefolge unterdrückter Teilungen (Synapsis, Tetradenstadium). Die unterdrückten Teilungen rufen eine starke Chromatinanhäufung in den wachsenden Geschlechtszellen hervor.

Popoff bewegt sich in ähnlichen Gedankengängen. Er nimmt an, daß es schon in der Vermehrungsperiode zu Depressionen und unterdrückten Teilungen kommt, welche jedesmal durch das Auftreten gelappter und verästelter Kerne gekennzeichnet sind. Es gelingt den Geschlechtszellen zunächst noch, durch Resorption von Kernmaterial die Depression wieder notdürftig zu beheben. Dann wird aber in der Synapsis ein Anlauf zur Teilung vereitelt und fernerhin in der Wachstumsperiode, je im Stadium der Ausbildung längsgespaltener Segmente (*Noyaux diplotènes*) und dann auch bei der Tetradenbildung eine Teilung unterdrückt. Es folgen dann Stadien, welche zur Auflösung der Tetraden und zur Rückkehr des Kerns in den Zustand seiner Verteilung des Chromatins führen und von einem äußerst intensiven Wachstum des Kerns und der Oocyte begleitet sind. Durch die vielen in der Teilungs- und Wachstumsperiode aufeinanderfolgenden unterdrückten Teilungen kommt die germinative Zelle in einen Zustand tiefster Depression, sie wird »reif«. Von außen zugeführte Nahrung kann nicht mehr auf die höhere synthetische Stufe des Plasmas gebracht werden, sondern bleibt als eine synthetische niedrigere Gruppe (Dotter, Glykogen usw.) im Zellplasma eingelagert.

Diesen Theorien gegenüber möchte ich zunächst daran erinnern, daß man zur Erklärung jenes Komplexes von Erscheinungen, die für die »Depression« der Protozoen charakteristisch sind (Kernvergrößerung, verminderte Teilungsfähigkeit, körperliche Degeneration), nicht unbedingt zu der Lehre von der Kernplasma-Relation zu greifen braucht. Ich selbst habe bei Kulturen von *Hydra* an der die Hydren bewohnenden *Trichodina pediculus* eine Anzahl dieser Erscheinungen beobachtet, möchte sie aber auf Bakterienüberwucherungen, unzureichende oder ungeeignete Nahrung, Schädigungen beim Wasserwechsel zurückführen und nicht auf Verhältnisse der inneren Konstitution (Popoff 1908).

Sodann konnte ich ebensowenig wie Moroff (1909) bemerken, daß bei den Copepoden in der Vermehrungsperiode Anzeichen vorliegen, welche auf eine Depression hindeuten (Amitosen, gelappte, verästelte Kerne). Es konnten nie abnorme Vorgänge bei der Zellteilung konstatiert werden. Ferner fehlt bei den Copepoden jeder Anhaltspunkt dafür, daß die Synapsis, das diplotene Stadium und das Stadium der frühdiakinetischen Tetra-

den (Fig. 34, 76, 77) je eine unterdrückte Teilung repräsentieren. Ich halte vielmehr, wie ich oben angeführt habe, die Synapsis für ein vorbereitendes Stadium der ersten Reifungsteilung, das zum größten Teil dem »segmentierten Knäuel« FLEMMINGS (1879) entspricht, und dasselbe gilt für die beiden andern genannten Stadien. Deshalb dürfte das »Keimbläschenstadium« wohl kaum mit einer unterdrückten Teilung im Zusammenhang stehen, denn gerade bei den Copepoden sind ja ganz sichere Hinweise darauf vorhanden, daß das »Keimbläschenstadium« erst sekundär eingeschaltet ist (vgl. S. 101). Anders verhält sich die Sache mit den Teilungsanläufen, die zuerst von SELENKA (1881/82) bei Seeplanarien und von MEVES (1895) bei *Salamandra* beobachtet wurden und welche tatsächlich in gewissem Umfang eine Deutung im Sinne HERTWIGS und POPOFFS erlauben.

IV.

Die Reifungsteilungen.

Als vierter Punkt sei einiges über den allgemeinen Charakter und insbesondere die rasche Aufeinanderfolge der Reifungsteilungen hinzugefügt (vgl. HÄCKER 1899, S. 104). Vor allem die Auffassung, daß eine derselben eine »Reduktionsteilung« ist, hat dazu beigetragen, daß sie in allen Theorien über Reduktion, Vererbung usw. eine große Rolle spielen. Nun konnte ich es aber für meine Objekte, die Copepoden, sehr wahrscheinlich machen, daß beide Reifungsteilungen im wesentlichen typische Längsteilungen sind (Prääquation—Postäquation), und es würden sich also in diesem Punkt die Reifungsteilungen von gewöhnlichen Mitosen nicht unterscheiden. Dagegen ist ganz ausschließlich für die Reifungsteilungen speziell der Metazoen charakteristisch, daß zwei Teilungen rasch aufeinanderfolgen, ohne daß zwischen die erste und zweite Teilung irgendwelche vorbereitende Stadien eingeschoben wären. Ferner ist es ein durchaus abweichendes Verhalten, daß der Längsspalt, welcher der zweiten Teilung angehört, schon so früh erscheint (in der Diakinese, spätestens in der Anaphase I), daß also die vorbereitenden Stadien der zweiten Teilung zwischen die vorbereitenden Stadien der ersten Teilung hineinverlegt erscheinen und mit diesen gemeinsam ablaufen. Deshalb sind auch schon die Chromosomen in vorbereitenden Phasen der Teilung (Diakinese, biseriale Anordnung) auf dem Querschnitt vierwertig, statt zweiwertig wie in den Teilungsprophasen gewöhnlicher Mitosen. Alles in allem würde also die ganze Reifungsphase, d. h. der Zeitraum von der letzten Teilung der Ureizellen bis zum Abschluß der zweiten Reifungs-

teilung, aus zwei ineinandergeschobenen Kernteilungen bestehen, so daß sowohl die Prophasen dieser Teilungen als auch die Teilungen selbst gemeinsam durchlaufen werden. Die vereinzelten Anläufe zu Mitosen, die tatsächlich bei einzelnen Objekten in den Prophasen der Reifungsteilungen zur Beobachtung gelangt sind (SELENKA 1881/1882, Meves 1895), scheinen mir auch zugunsten dieser Annahme zu sprechen. Es können diese Befunde vielleicht als phylogenetische Reminiszensen aufgefaßt werden. MEVES (1895) sagt geradezu: »Das Auftreten dieser Phasen der Reifungsteilung wird verständlich, wenn man sie als Rückschläge auf frühere Stufen der phylogenetischen Entwicklung auffaßt, die wahrscheinlich unter abnormen Bedingungen wieder zum Vorschein kommen.« Vielleicht erfolgten also die Teilungen der Reifungsperiode ursprünglich wie gewöhnliche Mitosen nacheinander und schlossen sich dicht an die letzte Teilung der Oogonien bzw. Spermatogonien an. Aus Gründen physiologischer oder phylogenetischer Natur mag es dann zu einer Abtrennung von den oogonialen Teilungen, und zwar zu einer Zusammenschiebung beider Teilungsprozesse gekommen sein.

V.

Spezifische Chromosomenzahlen, Heterochromosomen, Chromosomenformen und Nucleolen.

Zum Schluß sollen noch einige Erscheinungen besprochen werden, welche zwar auch dazu beitragen, der Reifungsperiode ihr charakteristisches Aussehen zu verleihen, aber unter sich und mit den andern Erscheinungen der Reifungsperiode nicht allzuviele Beziehungen aufweisen.

1. Spezifische Chromosomenzahlen.

Wie aus der Aufzählung der spezifischen Chromosomenzahlen bei den Copepoden S. 57 u. 58 hervorgeht, ist die Chromosomenzahl beinahe von Spezies zu Spezies wechselnd, innerhalb der Spezies aber ziemlich konstant. Nahe verwandte Formen pflegen allerdings gleiche Chromosomenzahl zu haben, *Cyclops fuscus* und *Cyclops albidus* je 7, *Cyclops strenuus* und *Cyclops insignis* je 11, *Cyclops Dybowskii* und *Cyclops bicuspidatus* je 9, *Cyclops phaleratus* und *Cyclops affinis* je 6 + 1 »*h*«, *Heterocope weismanni* und *Heterocope saliens* je 16, viele Diaptomiden 17; aber andrerseits hat der *Cyclops fuscus* var. *distinctus* 5 + 1 »*h*« oder seltener 6 + 1 »*h*«, während *Cyclops fuscus* 7 hat; *Cyclops Leuckarti* hat 7 Chromosomen und der ihm am nächsten stehende *Cyclops Dybowskii* 9 Chromosomen; *Cyclops viridis* hat 6, sein Verwandter *Cyclops vernalis* dagegen 5 oder 5 + 1 »*h*« Chromosomen. Neben

der häufigeren Zahl 17 bei Diaptomiden kommt bei einzelnen Arten auch die Zahl 16 und 14 vor. Auch innerhalb der Spezies kann die Chromosomenzahl variieren. Neben der Zahl 5 + 1 »*h*« fand ich bei *Cyclops fuscus* var. *distinctus* auch als seltenen Fall die Zahl 6 + 1 »*h*«. Neben 5 Chromosomen scheinen bei *Cyclops vernalis* 5 + 1 »*h*« gerade so häufig vorzukommen. Bei einer Freiburger Form von *Cyclops viridis* hat Häcker vielfach zwei Mikrochromosomen gefunden, während solche bei den mir vorliegenden Rassen nicht auftreten.

Wenn nun auch tatsächlich zwischen den spezifischen Chromosomenzahlen der Copepoden und ihrer verwandschaftlichen Stellung gewisse Beziehungen bestehen, wie dies Braun (1909) gezeigt hat, so möchte ich persönlich kaum glauben, daß man auf Grund der spezifischen Chromosomenzahlen sehr weittragende Schlüsse deduktiver Art bezüglich der verwandtschaftlichen Beziehungen der Spezies ziehen kann. Denn wie die oben angegebenen Zahlen beweisen, ist die Chromosomenzahl eine Eigenschaft, welche innerhalb engerer Formengruppen, ja sogar innerhalb derselben Art einer beträchtlichen Variabilität unterworfen sein kann.

2. Heterochromosomen.

Die Untersuchung der Copepoden hat eine überraschende Fülle dieser merkwürdigen Gebilde zutage gefördert. In der Aufzählung auf S. 57 u. 58 sind diese Fälle angeführt. Leider konnte ich nur bei *Cyclops phaleratus* und *Diaptomus castor* das Heterochromosom in seinen Schicksalen genauer verfolgen. Es hat sich gezeigt, daß das Heterochromosom von *Diaptomus castor* drei Ditetraden darstellt, welche in ihrer Metamorphose, namentlich was das verspätete Auftreten des primären und sekundären Längsspaltes anbetrifft, hinter den gewöhnlichen Ditetraden zurückbleiben und sich schon dadurch sowie durch die Neigung, eine ringähnliche Figur durch Zusammenbiegen ihrer Enden zu bilden, von den übrigen Chromosomen unterscheiden. Bemerkenswert sind vor allem auch vereinzelte Fälle, in welchen die drei Ditetraden unter Aufgabe ihrer Individualität tatsächlich zu einem einzigen geschlossenen Ringe zusammengeflossen waren (Fig. 90 bei »*h*«).

Von allgemeinem Interesse scheinen mir auch die Beobachtungen über das Heterochromosom in den Reifungsteilungen von *Cyclops phaleratus* zu sein. Aus diesen geht hervor, daß in den reifen Eikern bald nur sechs Chromosomen, bald 6 + 1 »*h*« eingehen, während merkwürdigerweise in den Prophasen der Reifungsteilungen stets 6 + 1 »*h*« zum Vorschein kommen. Wenn nun nicht der Samenkern (auf dem Wege selektiver

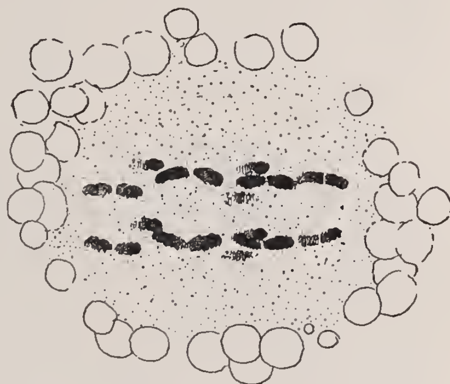
Befruchtung) die jedesmalige Regulierung der Chromosomenzahl besorgt[1]), was ich wegen der Kompliziertheit des Prozesses für wenig wahrscheinlich halte, so stehen hier offenbar der Individualitätslehre gewisse Schwierigkeiten im Wege, während die Anschauungen von Delage (1899) (Regulationshypothese) oder von Fick (1905) (Manövrierhypothese) hier einigermaßen einen Ausweg bieten würden.

Die Befunde bei *Cyclops vernalis* endlich, wo das Heterochromosom neben den typischen fünf Ditetraden auftauchen oder fehlen kann, scheinen mir wie gewisse Erscheinungen bei *Diaptomus castor* (verspätetes Auftreten des Längsspalts) dafür zu sprechen, daß das Heterochromosom ein dege-

Textfig. 28.



Textfig. 29.



Biseriale Anordnung von *Cyclops strenuus* seitlich, um die verschiedene Form der Chromosomen zu zeigen.

nerierendes, im Abbau begriffenes Chromosom ist (vgl. Häcker 1907, S. 52), dem jedenfalls — wenigstens bei den Copepoden — keine besondere Bedeutung (Geschlechtbestimmung z. B.) zugeschrieben werden kann. Die Größenunterschiede der Chromosomen, die man da und dort bei Copepoden findet (vgl. Textfig. 9, 12, 13, 14), möchte ich samt und sonders auf heterochrone Entwicklung zurückführen.

3. Es hat sich gezeigt, daß beinahe jede Spezies ihre besondere Chromosomenform in der späten Diakinese bzw. biserialen Anordnung besitzt. Arten, welche besonders zur Varietätenbildung neigen, so z. B. *Cyclops strenuus*, variieren auch in der Chromosomenform. Dies geht so weit, daß jede Lokalvarietät ein besonderes Verhalten zu zeigen scheint. (Vgl. die Textfig. 8, 28, 29 von *Cyclops strenuus*). Ob

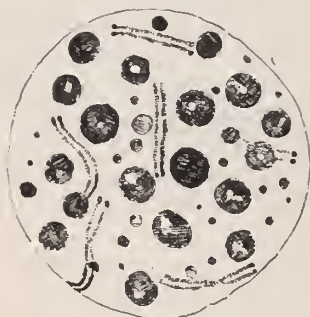
---

[1]) In der Weise, daß Eier mit sechs Chromosomen stets durch Samenzellen mit 6 + 1 »*h*« Chromosomen und umgekehrt befruchtet werden.

allerdings die äußeren Lebensbedingungen direkt oder indirekt die Chromosomenform beeinflussen können, vermag ich nicht zu entscheiden[1]).

4. Von großer Bedeutung für den äußeren Anblick, den die Reifungsperiode gewährt, sind die Nucleolen der unreifen Eier. Was nun zunächst ihre Form anbelangt, so ist diese äußerst wechselnd. Doch gilt auch hier, daß die Tiere einer Spezies von einem bestimmten Fundort auch in bezug auf die Form der Nucleolen übereinstimmen. Sodann gilt ganz im allgemeinen, daß man bei *Diaptomus* und *Heterocope* meist rundliche Nucleolen findet, bei *Cyclops* dagegen alle denkbaren Nucleolenformen (rundliche, eckige, bandförmige usw.) vorkommen. Erstere leben meist in den gleichförmigen Verhältnissen größerer Gewässer, letztere unter den äußerst wechselnden Bedingungen, welche in den kleineren Wasseransammlungen (Tümpel, Gräben usw.) herrschen. Ganz ähnlich verhält es sich mit der Zahl der Nucleolen. Auch hier verhalten sich die Tiere je nach den äußeren Bedingungen verschieden. Die unter gleichmäßigen Verhältnissen lebenden *Diaptomus*- und *Heterocope*-Arten haben meist einen großen Nucleolus. Die Cyclopiden dagegen können auch mehrere (Fig. 25 u. 26) bis sehr viele (Textfig. 30) Nucleolen besitzen. Er geht aus diesen Beobachtungen vielleicht hervor, daß die Einflüsse der Lokalität (Nahrung, Beschaffenheit des Wassers usw.) nicht ohne Einfluß auf die Form und Zahl der Nucleolen sind. Dieses Verhalten der Nucleolen scheint mir im ganzen zugunsten der Secretionstheorie (Häcker) und weniger zugunsten der Reservestofftheorie (Strasburger) oder Transportationstheorie (Fick) zu sprechen. Auch bei meinen sonstigen Beobachtungen über die Schicksale der Nucleolen sind mir keine der Secretionstheorie entgegenstehende Schwierigkeiten in den Weg getreten.

Textfig. 30.



Spätdiakinetischer Kern von *Cyclops bicuspidatus* var. *odessana* mit einer Menge von Nucleolen.

[1]) Die Möglichkeit einer derartigen Beeinflussung muß allerdings im Auge behalten werden in Hinsicht auf die Tatsache, daß man bei verschiedenen Objekten imstande war, durch Eingriffe chemischer und mechanischer Art die Chromosomenform zu beeinflussen. Ich erinnere an die Befunde von R. Hertwig (1896) an strychnisierten Seeigeleiern, von Nemec (1904) an chloralisierten Wurzelspitzen der Zwiebel, von Häcker (1900) und Schiller (1907, 1909) an ätherisierten (usw.) Furchungseiern von *Cyclops*.

Zusammenfassung der Darlegungen des allgemeinen Teils.

Die Reifungsperiode, d. h. der Zeitraum von dem auf die letzte Teilung der Oogonien folgenden Ruhestadium bis zum Abschluß der zweiten Reifungsteilung, ist durch eine Reihe von Erscheinungen ausgezeichnet, welche sie durchaus von gewöhnlichen Zellteilungen zu unterscheiden scheinen. Ich habe versucht, diesen Komplex von Erscheinungen in gewisse Gruppen zu sondern, und bin dabei zu folgenden Ergebnissen gelangt:

Die Synapsis ist ein einleitendes Stadium der ersten und zweiten Reifungsteilung und entspricht dem dünnfadigen bis dickfadigen Knäuel (Flemming). Die im dickfadigen Stadium auftretende longitudinale Teilung ist eine wirkliche Längsteilung. Die einseitige Kontraktion des Knäuels ist eine nebenhergehende Erscheinung, der keine größere Bedeutung zukommt.

Die vorläufige numerische Reduktion erfolgt durch unvollkommene Segmentierung des Chromatinfadens in zweiwertige oder bivalente Elemente (Pseudo- oder Scheinreduktion nach Rückert und Häcker).

Die endgültige Reduktion erfolgt nicht während der Reifungsperiode, vielmehr läßt sich durch beide Reifungsteilungen hindurch die die Bivalenz andeutende Querkerbe verfolgen. Wann die endgültige numerische Reduktion erfolgt, kann nur durch genauere Untersuchung der Embryonalentwicklung entschieden werden. Deshalb sind die erste und die zweite Reifungsteilung Längsteilungen nach Art der typischen Mitosen, nur daß immer zwei Elemente (bivalente Elemente) gemeinsam die mitotischen Prozesse durchlaufen.

Die ganze Reifungsperiode, also der Zeitraum von dem auf die letzte Teilung der Oogonien folgenden Ruhestadium bis zum Abschluß der zweiten Reifungsteilung, besteht aus zwei ineinandergeschobenen typischen Kernteilungen, so daß die Prophasen dieser Teilungen großenteils gemeinsam durchlaufen werden.

Das Keimbläschenstadium ist wohl nur ein sekundäres, eigentümlich metamorphosiertes Stadium des segmentierten Knäuels oder der Diakinese, hervorgerufen durch das lange Verweilen (die Stauung) der Eizellen im Ovar bzw. Ovidukt.

September 1909.

Literaturverzeichnis.

Bluntschli, K. 1904. Beobachtungen am Ovarialei der Monascidie Cynthia microcosmus Morph. Jahrb. 32. S. 391—450.

Born, G. 1892. Über die Reifung des Amphibieneis. Anat. Anz. 7. S. 803—811.

Boveri, Th. 1892. Befruchtung. Erg. Anat. Entw. 1. S. 386—485.

— 1904. Die Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns. Jena. Fischer.

Braun, H. 1907. Über die spezifischen Chromosomenzahlen in der Gattung Cyclops. Zool. Anz. 32. S. 407—412.

— 1909. Die spezifischen Chromosomenzahlen der einheimischen Arten der Gattung Cyclops. Arch. f. Zellf. 3. S. 449—482.

Carnoy, J. B. 1886. La vésicule germinative et les globules polaires chez l'Asc. mégalocéph. Cellule 2. S. 1—80.

Claus, C. 1893. Neue Beobachtungen über die Organisation und Entwicklung von Cyclops. Arbeit. Zool. Instit. Wien. 10. S. 283—356.

Delage, Y. 1899. La fécondation mérogonique et ses résultats. Comptes rendus 129. S. 645—648.

D'Hollander. 1904. Recherches sur l'ovogenèse et sur la structure et la signification du noyau vitellin de Balbiani chez les oiseaux. Arch. d'anat. Microsc. 7. S. 117—180.

Farmer, J. B., Moore, J. E. S., Walker, C. E. 1904. Über die Ähnlichkeit zwischen den Zellen maligner Neubildungen beim Menschen und denen normaler Fortpflanzungsgewebe. Biol. Zentralbl. 24. S. 1—7.

Fick, R. 1893. Die Reifung und Befruchtung des Axolotleis. Zeitschr w. Zool. 56. S. 529—614.

— 1905. Betrachtungen über Chromosomen, ihre Individualität, Reduktion und Vererbung. Arch. Anat. Supplem. S. 179—278.

— 1908a. Vererbungsfragen, Reduktions- und Chromosomenhypothesen, Bastardregeln. Merkel-Bonnets Erg. Anat. Entw. S. 1—140.

— 1908b. Zur Konjugation der Chromosomen. Arch. f. Zellforsch. 1. S. 604—612.

Flemming, W. 1879. Beiträge zur Kenntnis der Zelle und ihrer Lebenserscheinungen. Arch. mikr. Anat. 16. S. 302—436.

—, 1895. Über die Wirkung der Chromosmiumessigsäure auf Zellkerne. Arch. mikr. Anat. 45. S. 162—166.

Giardina, A. 1902. Sui primi stadi dell'oogenesi e principalemente sulli fusi di sinapsi. Anat. Anz. 21. S. 293—308.

Goldschmidt, R. 1908a. Über das Verhalten des Chromatins bei der Eireifung und Befruchtung des Dicrocoelium lanceolatum. Arch. Zellforsch. 1.

— 1908b. Ist eine parallele Chromosomenkonjugation bewiesen? Arch. Zellforsch. 1. S. 620.

Gräter, A. 1903. Die Copepoden der Umgebung Basels. Revue Suisse 11. S. 419—541.

Grégoire, V. 1905. Les résultats acquis sur les cinèses de maturation. Cellule 22. S. 219—376.

Gruber, A. 1878a. Über zwei Süßwasser-Calaniden. Diss. Leipzig.

— 1878b. Die Bildung der Eisäckchen bei den Copepoden. Zool. Anz. 1. S. 247.

— 1879. Beiträge zu Kenntnis der Generationsorgane der freilebenden Copepoden Zeitschr. w. Zool. 32. S. 407—442.

HÄCKER, V. 1892. Die Eibildung bei Cyclops und Canthocamptus. Zool. Jahrb. Anat. Ontog. 5. S. 211—248.

— 1893. Das Keimbläschen, seine Elemente und Lageveränderungen. Arch. m. Anat. 41. S. 452—492. 42. S. 279—310.

— 1895a. Zur Frage nach dem Vorkommen der Scheinreduktion bei den Pflanzen. Arch. m. Anat. 46. S. 740—743.

— 1895b. Die Vorstadien der Eireifung. Arch. m. Anat. 45. S. 200—273.

— 1895c. Über die Selbständigkeit der väterlichen und mütterlichen Kernbestandteile während der Embryonalentwicklung von Cyclops. Arch. m. Anat. 46. S. 579—618.

— 1897. Über weitere Übereinstimmungen zwischen den Fortpflanzungsvorgängen der Tiere und Pflanzen. Biol. Zentralbl. 17. S. 689—705; 721—745.

— 1899. Praxis und Theorie der Zellen- und Befruchtungslehre. Jena. G. Fischer.

— 1901. Über die Fortpflanzung der limnetischen Copepoden des Titisees. Freiburg.

— 1902. Über das Schicksal der elterlichen und großelterlichen Kernanteile. Jen. Zeitschr. 37. S. 297—395.

— 1904a. Bastardierung und Geschlechtszellenbildung. Zool. Jahrb. Supplem. 7. S. 161—256.

— 1904b. Über die in malignen Neubildungen auftretenden heterotypischen Teilungsbilder. Biol. Zentralbl. 24. S. 787—797.

— 1907. Die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger. Erg. u. Fortschr. d. Zool. 1. S. 1—136.

HERTWIG, R. 1896. Über die Entwicklung des unbefruchteten Seeigeleis. Festschr. f. Gegenbaur 2. S. 33—86.

— 1906. Über die Ursache des Todes. Allg. Ztg. Nr. 288—289.

— 1907. Über den Chromidialapparat und den Dualismus der Kernsubstanzen. Sitzungsbericht Ges. Morph. Physiol. München.

— 1908. Über neue Probleme der Zellenlehre. Arch. Zellf. 1.

ISHIKAWA. 1891. Studies of Reproductive Elements. I. Spermatogenesis, Oogenesis and Fertilization in Diapt. Sp. Journal of the College of Science, Imperial University Tokio 5. S. 1—34.

KORSCHELT, E. und HEIDER, K. 1903. Lehrbuch der vergl. Entwicklungsgeschichte der wirbellosen Tiere. Jena. G. Fischer.

KÜHN, A. 1908. Die Entwicklung der Keimzellen in den parthenogenetischen Generationen der Cladoceren Daphnia pulex DE GEER und Polyphemus pediculus DE GEER. Arch. f. Zellf. 1. S. 538—586.

LAMS, H. 1907. Contribution à l'étude de la genèse du vitellus dans l'ovule des Amphibiens. Arch. Anat. Microsc. 9. S. 607—663.

LERAT, P. 1905. Les phénomènes de maturation dans l'ovogénèse et la spermatogénèse du Cyclops strenuus. Cellule 22. S. 160—199.

LUBOSCH, W. 1902a. Über die Eireifung der Metazoen, insbes. über die Rolle der Nucleolarsubstanz und die Erscheinung der Dotterbildung. Erg. Anat. Entw. 11. S. 709—783.

— 1902b. Über die Nucleolarsubstanz des reifenden Tritoneis nebst Betrachtungen über das Wesen der Eireifung. Jen. Zeitschr. 37. S. 217—296.

MARCUS, H., 1908. Beiträge zur Kenntnis der Gymnophionen. Arch. m. Anat. 71. S. 695—774.

Matscheck, H. 1909. Zur Kenntnis der Eireifung und Eiablage bei Copepoden. Zool. Anz. 34. S. 42—54.

Meves, Fr. 1895. Über eigentümliche mitotische Prozesse in jungen Oocyten von Salamandra maculosa. Anat. Anz. 10. S. 635—645.

— 1907. Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene, nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. Arch. m. Anat. 70.

— 1908. Es gibt keine parallele Konjugation der Chromosomen. Arch. Zellf. 1. S. 612—619.

Montgomery, Th. H. 1901. A study of the chromosomes of the germ cells of Metazoa. Trans. Amer. Philos. Soc. 20. S. 154—236.

Moore, J. E. V. 1895. On the Structural Changes in the Reproductive Cells during the Spermatogenesis of Elasmobranchs. Quart. Journ. of Micr. Sc. 38. S. 275—313.

Moroff. 1909. Oogenetische Studien. I. Copepoden. Arch. Zellf. 2.

Nemec, B. 1904. Über die Einwirkung des Chloralhydrats auf die Kern- und Zellteilung. Jahrb. f. wiss. Botan. 39. S. 645—730.

Paulcke, W. 1900. Über die Differenzierung der Zellelemente im Ovarium der Bienenkönigin. Apis mellifica ♀. Zool. Jahrb. Anat. Ontog. 14. S. 177—202.

Popoff, M. 1907a. Eibildung bei Paludina vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix usw. Arch. m. Anat. 70. S. 43—129.

— 1907b. Depression der Protozoenzellen und der Geschlechtszellen der Metazoen. Arch. Protistk. Festschr. f. R. Hertwig. Suppl. 1. S. 43—83.

— 1908. Experimentelle Zellstudien. Arch. Zellf. 1. S. 245—379.

Rath, O. vom. 1892. Zur Kenntnis der Spermatogenese von Gryllotalpa. Arch. m. Anat. 40. S. 102—132.

— 1895. Neue Beiträge zur Frage der Chromatinreduktion in der Samen- und Eireife. Arch. m. Anat. 46. S. 168—238.

Rawitz, B. 1895. Centrosoma und Attraktionssphäre in der ruhenden Zelle des Salamanderhodens. Arch. m. Anat. 44. S. 455—479.

Rückert, J. 1892. Zur Entwicklungsgeschichte des Ovarialeis bei Selachiern. Anat. Anz. 7. S. 107—158.

— 1894a. Zur Eireifung bei Copepoden. Anat. Hefte. 4. S. 261—351.

— 1894b. Die Chromatinreduktion bei der Reifung der Sexualzellen. Erg. Anat. Entw. 3. S. 517—583.

— 1895. Zur Befruchtung von Cyclops strenuus. Anat Anz. 10. S. 708—725.

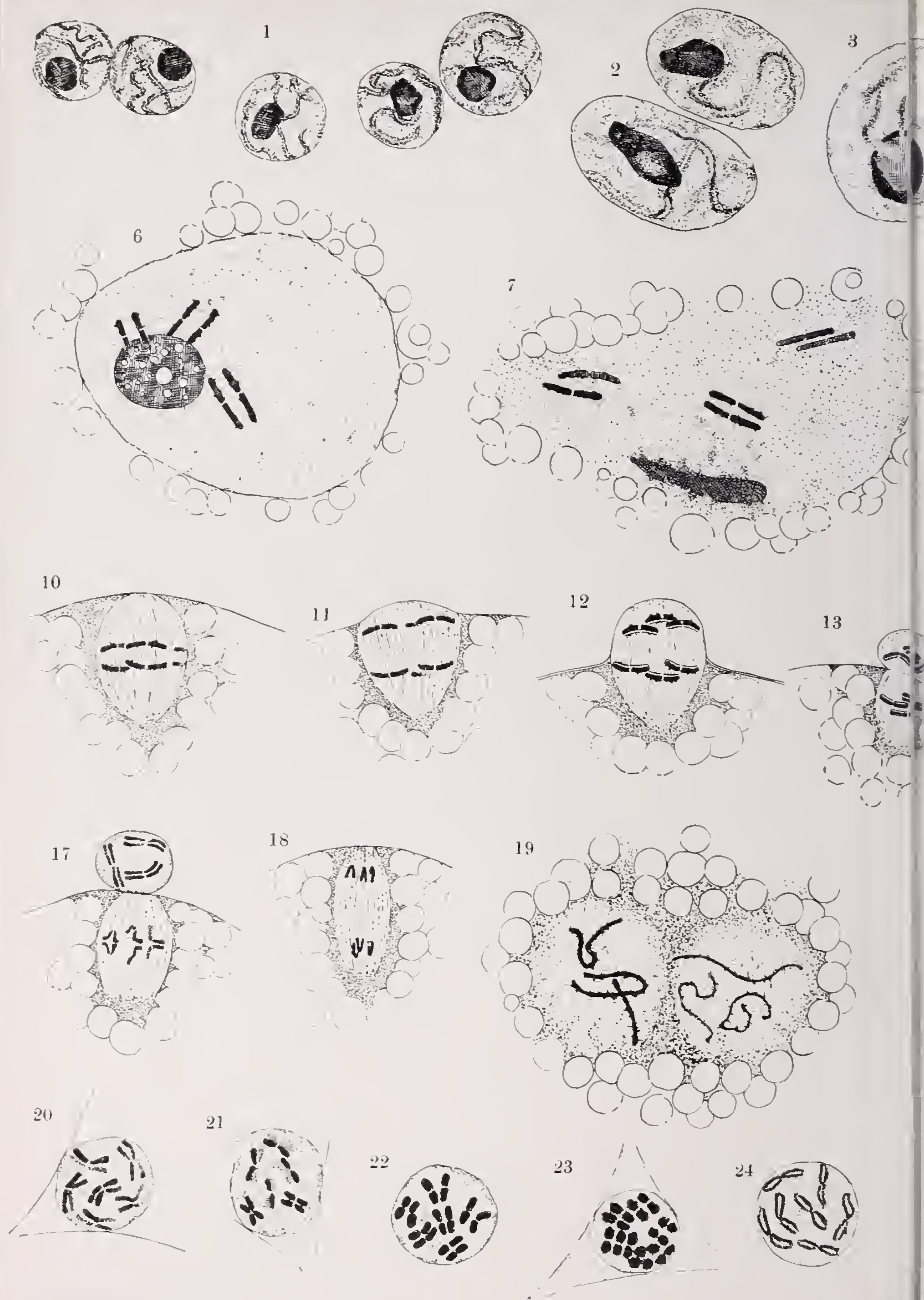
Scheffelt, E. 1908. Die Copepoden und Cladoceren des südlichen Schwarzwaldes. Arch. Hydrobiol. Planktonkde. 4. S. 91—164.

Schiller, J. 1908. Über künstliche Hervorrufung von Vierergruppen bei Cyclops. Zool. Anz. 32. S. 616—621.

— 1909. Über künstliche Erzeugung primitiver Kernteilungsformen bei Cyclops. Arch. Entwicklungsmech. 27. S. 559—609.

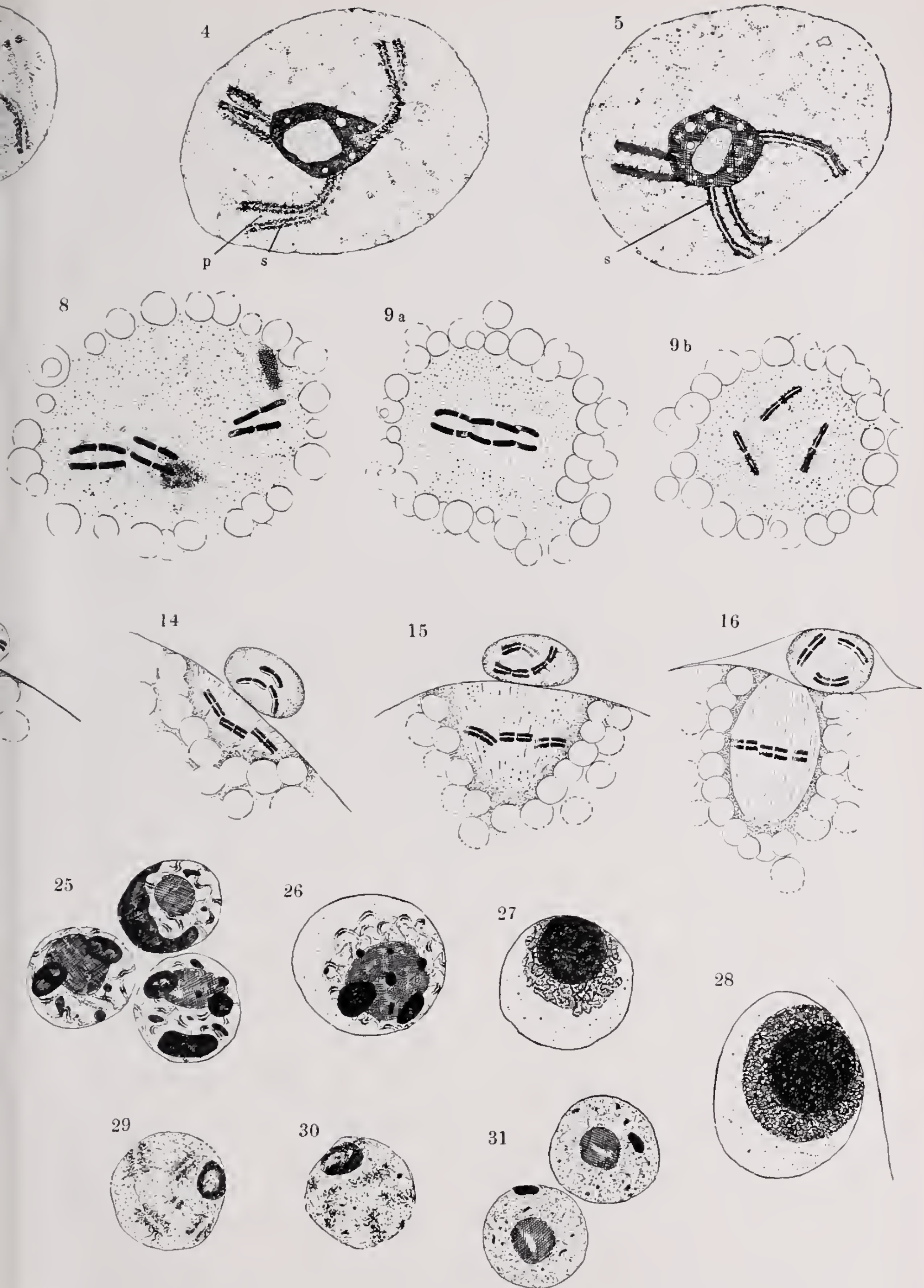
Schmeil, O. Deutschlands freilebende Süßwassercopepoden.
1892. 1. Teil. Cyclopidae. Bibliothec. Zoolog. 4.
1893. 2. » Harpacticidae. Bibliothec. Zoolog. 5.
1896. 3. » Centropagidae. Bibliothec. Zoolog. 8.

Schönfeld, H. 1900. La spermatogénèse chez le taureau. Bibliogr. An. Nicol. 8. S. 74—98.

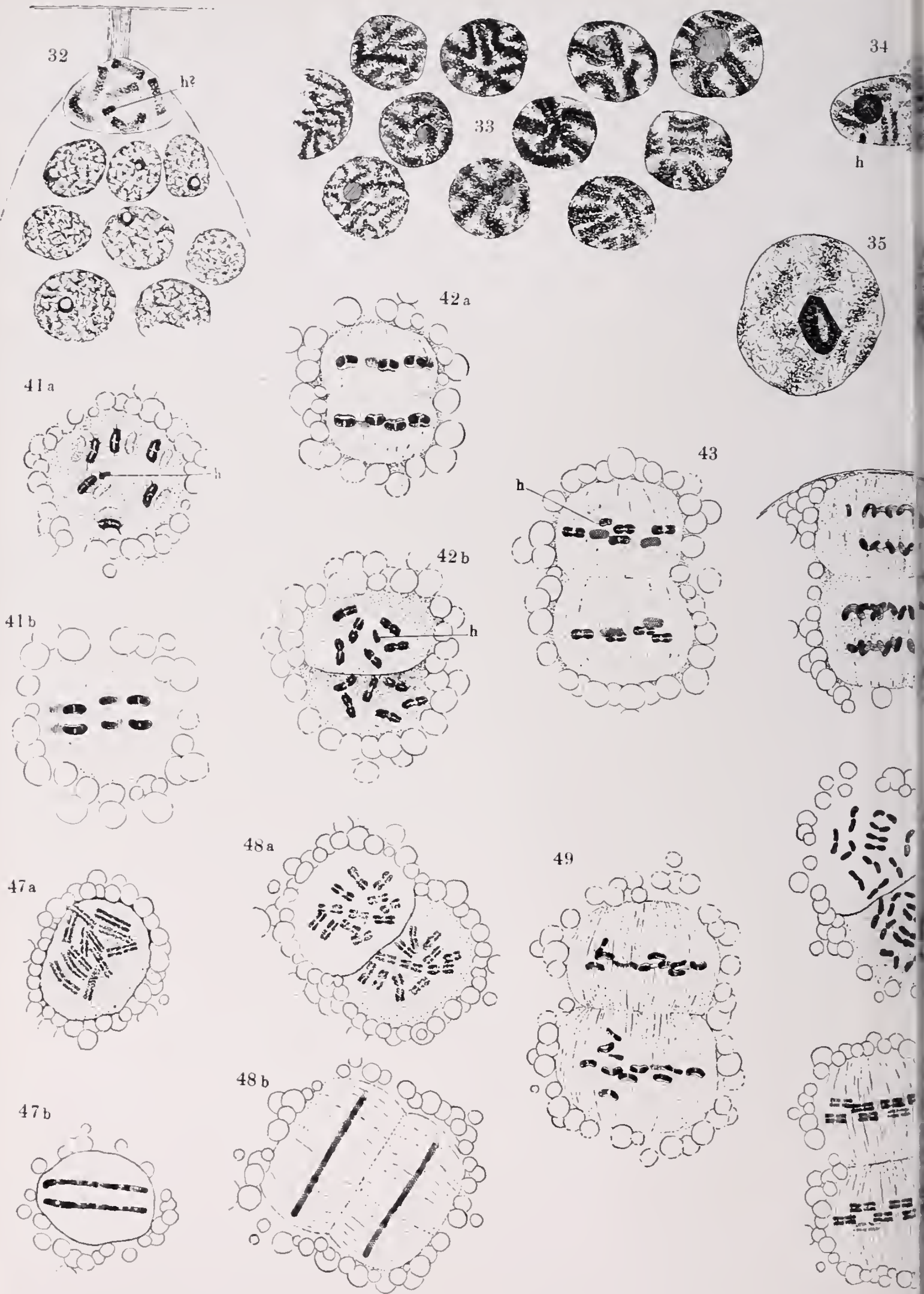


Matschek gez.

Verlag von Wilhelm

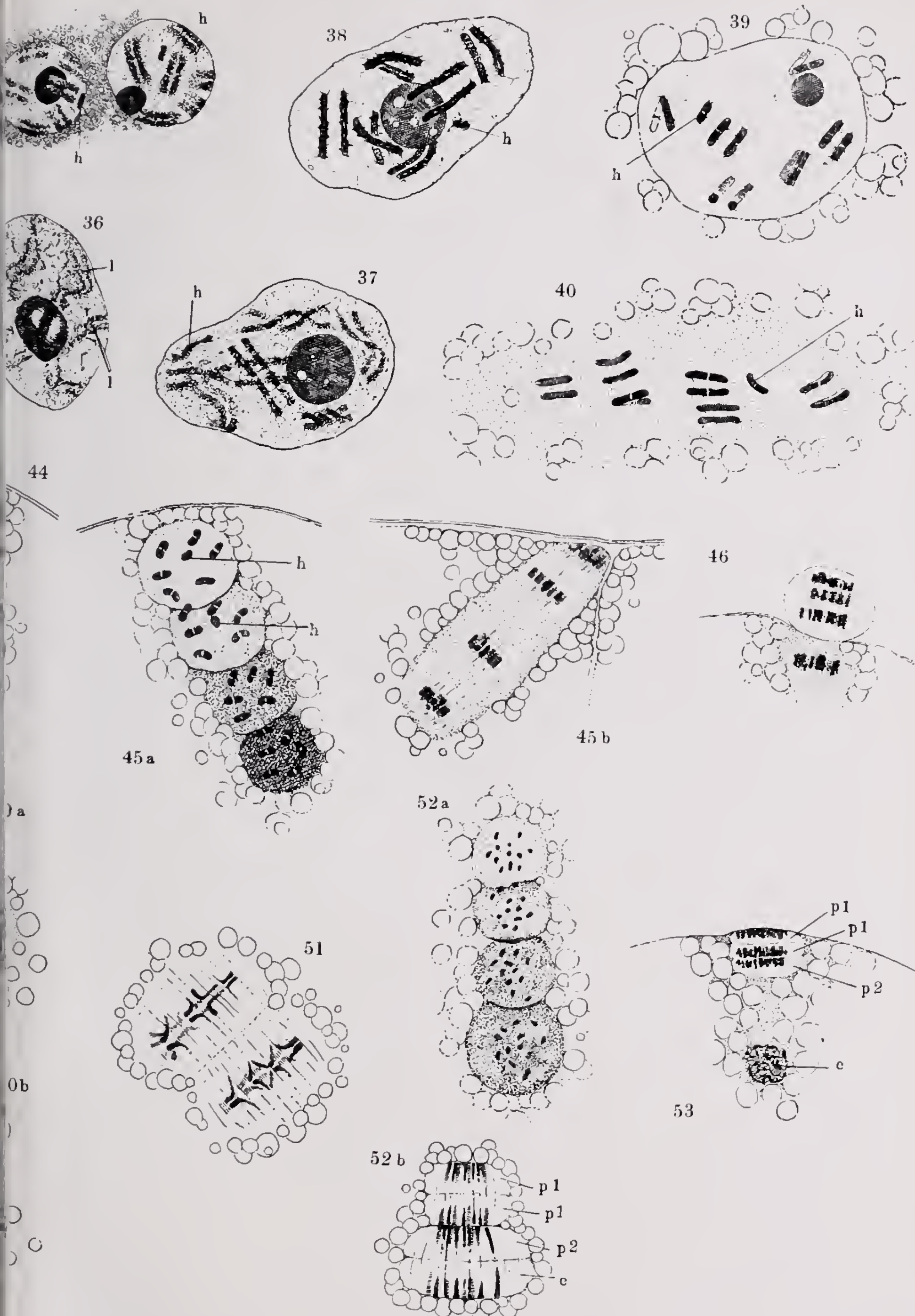


gelmann in Leipzig.

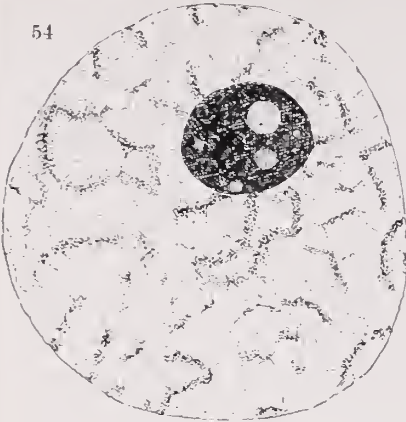


Matscheck gez.

Verlag von Wilhelm

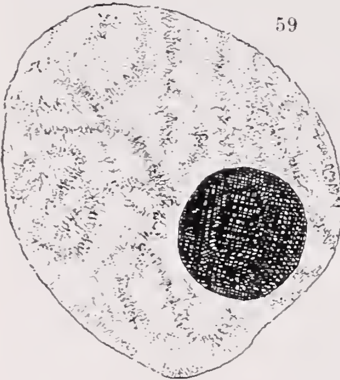


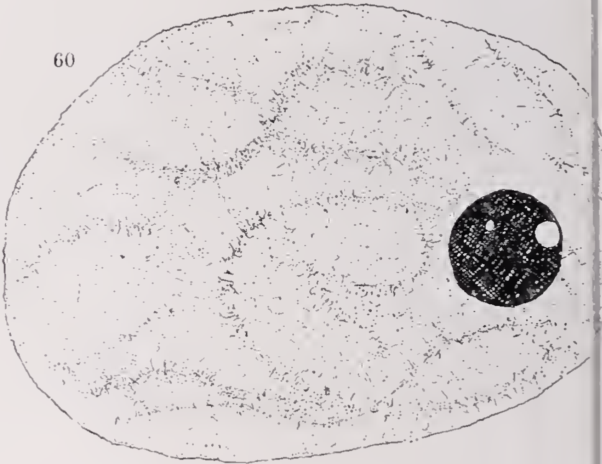
…elmann in Leipzig.

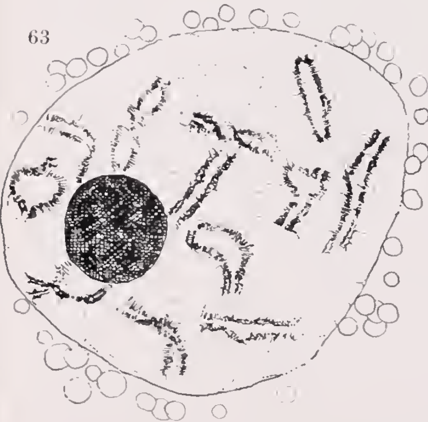


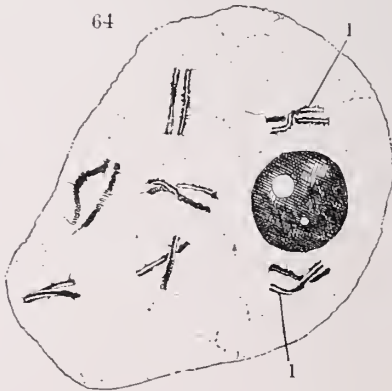








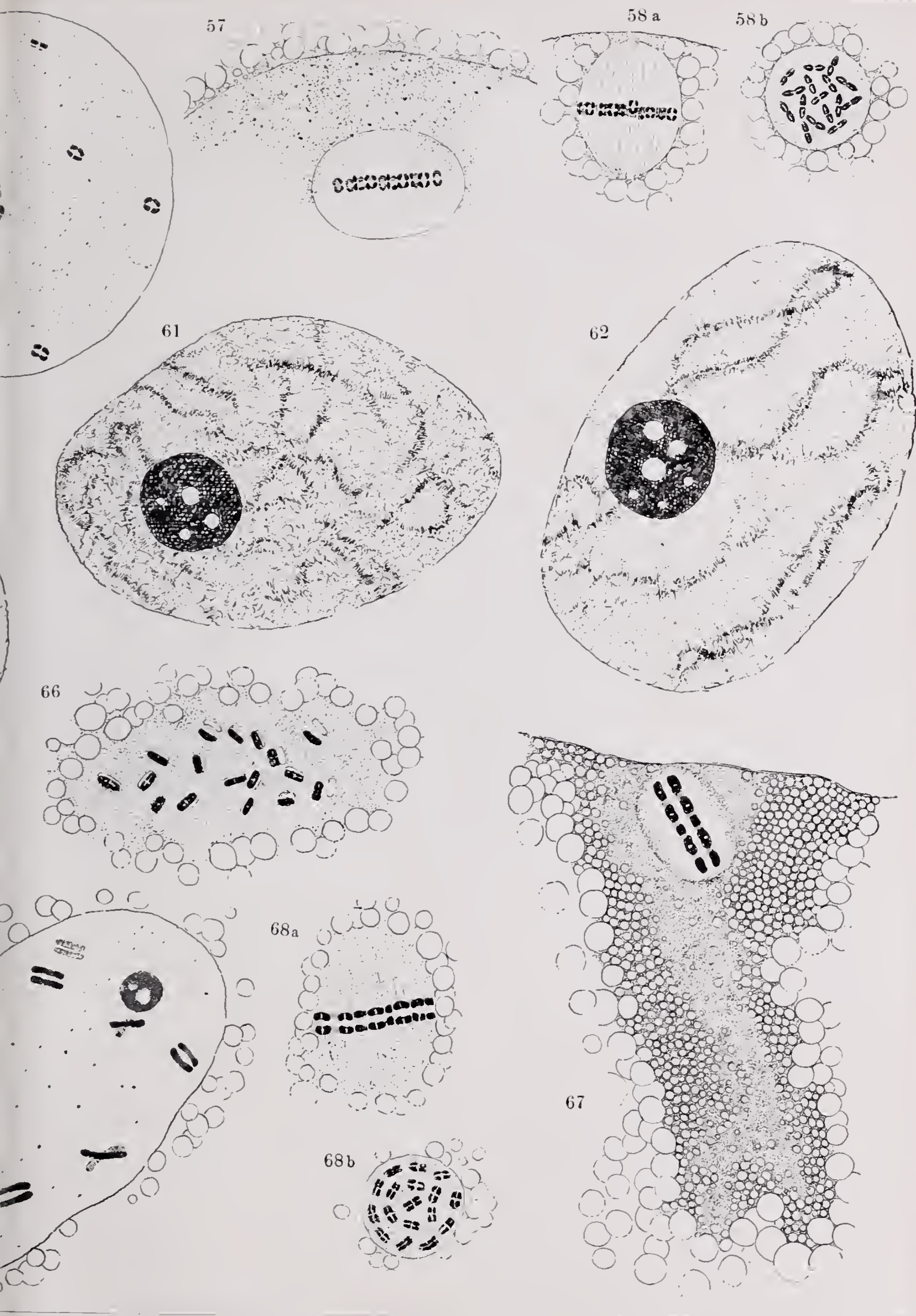




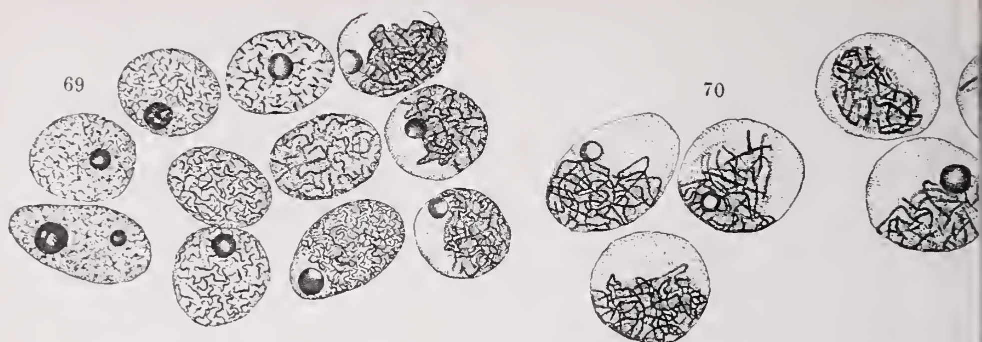


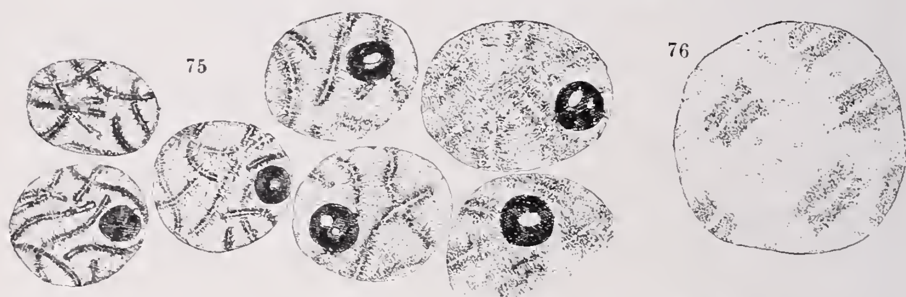
Matscheck gez.

Verlag von Wilheln

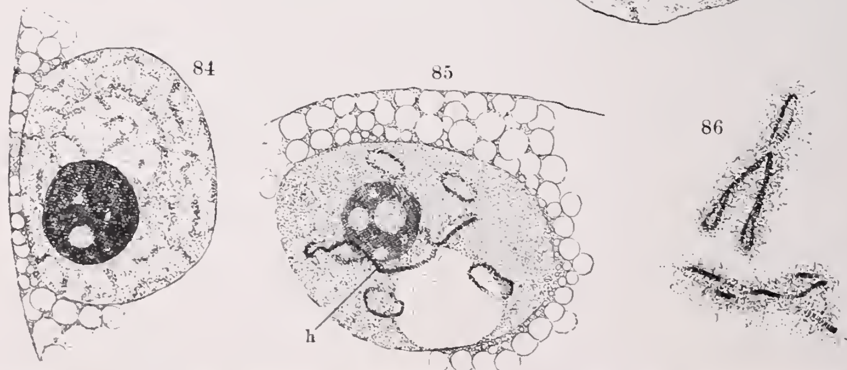


ngelmann in Leipzig.





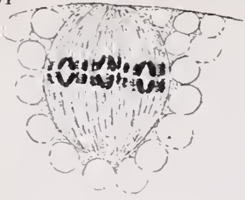




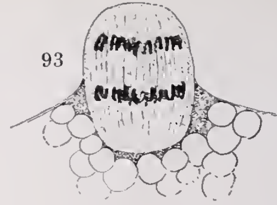
Matscheck gez.

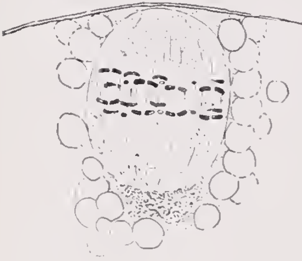
Verlag von Wilheln


71
72
73
74
80
h
a
c
h
79
h
81
78
h
h
b
h
88
h
89a
87
90
89b
h
h

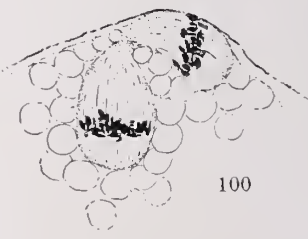




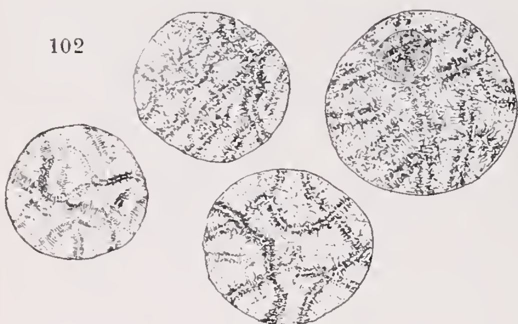


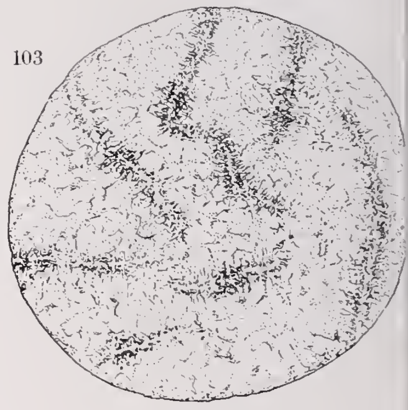


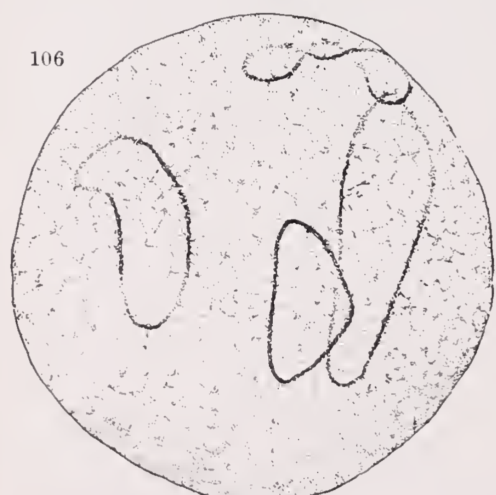


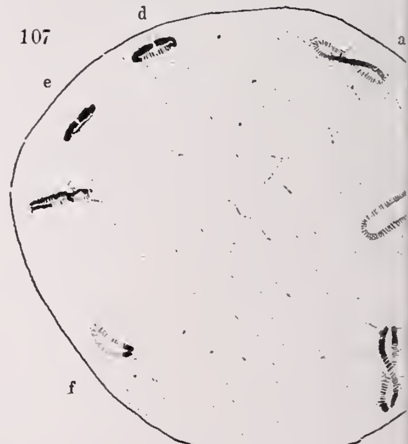






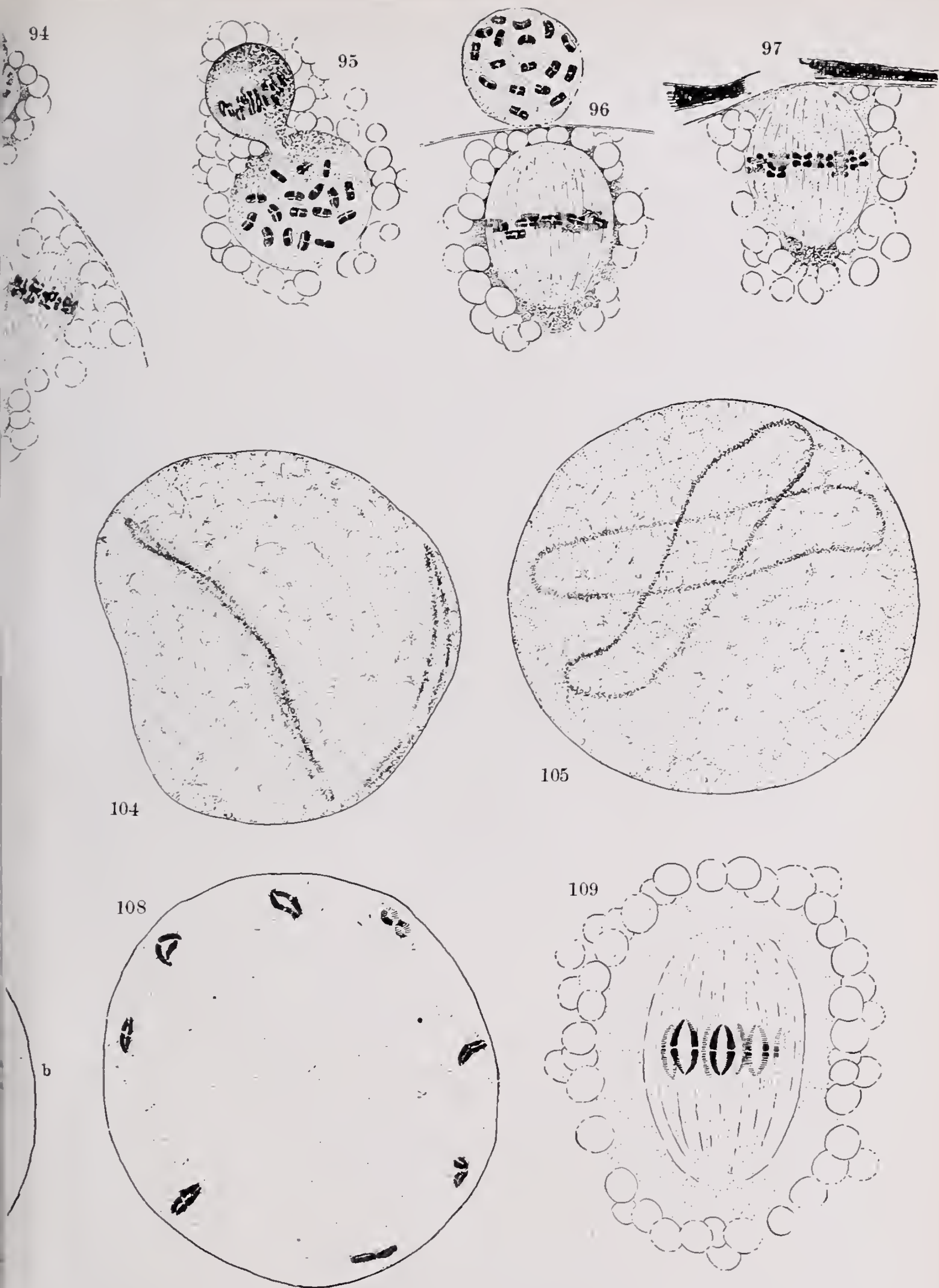






Matscheck gez.

Verlag von Wilhe



Engelmann in Leipzig.

SCHREINER, A. und K. E. 1907. Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. IV. Die Reifung der Geschlechtszellen von Enteroxenos Oestergreni. Bonn.
Vidensk. Selsk. Skrifter. Math. Naturw. Kl. 2. S. 1—25.

SELENKA. 1881. Über eine eigentümliche Art der Kernmetamorphose. Biol. Zentralbl. 1. S. 492—497.

SIDOROW, S. A. 1905[1]). Die zweite Karyokinese der Eireifung von Cyclops strenuus und die Rolle des zweiten Richtungskörpers während der Befruchtung und Fragmentierung. Trudy stud. Kružkadlă isslêdow. rusk. prirody Moskv. 2. S. 134.

STRICHT, VAN DER. 1904. La structure de l'œuf des Mammifères. Première Partie. L'oocyte au stade d'accroissement. Arch. de Biol. 21. S. 1—101.

VOSSELER, J. 1886. Die freilebenden Copepoden Württembergs und der angrenzenden Gegenden. Jahresh. Ver. Vaterl. Naturkde. Württemberg. 41. S. 167—204.

WALDEYER. 1901—1903. Die Geschlechtszellen. Handb. d. vergl. und exper. Entwicklungslehre der Wirbelthiere. 1. S. 86—476.

WASSILIEFF, W. 1907. Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. m. Anat. 70.

WEISMANN, A. 1876. Das Tierleben im Bodensee. Lindau.

— 1887. Über die Zahl der Richtungskörper und über ihre Bedeutung bei der Vererbung. Jena.

WILSON, E. B. 1900. The Cell in Developement and Inheritance. New-York.

WINIWARTER, H. VON. 1900. Recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des mammifères. Archiv. de Biol. 17. S. 33—199.

WOLF, E. 1905. Die Fortpflanzungsverhältnisse unserer einheimischen Copepoden. Zool. Jahrb. 22. S. 1—180.

WOLTERECK, R. 1898. Zur Bildung und Entwicklung des Ostracodeneis. Zeitschr. w. Zool. 64. S. 596—623.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel IV—VIII.

Sämtliche Figuren wurden mit dem ABBEschen Zeichenapparat auf Objekttischhöhe gezeichnet.

Die angewandte Vergrößerung ist immer ZEISS hom. Imm. $^1/_{12}$ Comp. Oc. 12. Die nachträgliche Verkleinerung bei der Reproduktion beträgt $^4/_5$.

Tafel IV.

Fig. 1—19. *Cyclops gracilis.*

Fig. 1. Frühe Diakinese. Ovar.

Fig. 2. Frühe Diakinese. Ovar.

Fig. 3. Späte Diakinese. Ovidukt. Drei Doppelfadensegmente.

Fig. 4. Späte Diakinese. Ovidukt. Drei Doppelfadensegmente. Neben dem »primären« Längsspalt (*p*) ist auch der »sekundäre« Längsspalt (*s*) sichtbar.

---

[1]) Nach einem Referat von R. FICK in SCHWALBES Jahresbericht. N. F. 11. 1905.

Fig. 5. Späte Diakinese. Ovidukt. Drei Doppelstäbchen. »Sekundärer« Längsspalt (*s*).

Fig. 6. Späte Diakinese. Ovidukt. Drei Doppelstäbchen. Querkerbe.

Fig. 7. Umordnung zur biserialen Anordnung. Zerfall des Nucleolus. Ovidukt.

Fig. 8. Einstellung der Doppelstäbchen in die biseriale Anordnung. Zerfall des Nucleolus. Ovidukt.

Fig. 9a. Biseriale Anordnung von der Seite. Ovidukt.

Fig. 9b. Biseriale Anordnung von oben. Ovidukt.

Fig. 10. Biseriale Anordnung bzw. Metaphase I von der Seite. (Sekundäres Keimbläschen). Ausgetretenes Ei.

Fig. 11. Beginn der Anaphase I.

Fig. 12. Anaphase I mit beginnender Drehung der Tetraden.

Fig. 13. Beginn der Abschnürung des Rk. I. Drehung der Tetraden.

Fig. 14. Rk. I. abgeschnürt.

Fig. 15. Vorbereitung zur zweiten Reifungsteilung.

Fig. 16. Metaphase II.

Fig. 17. Anaphase II am Anfang.

Fig. 18. Anaphase II am Ende.

Fig. 19. Kopulation der Geschlechtskerne. Im ♀- und ♂-Kern je drei lange Chromosomen.

Fig. 20—23 *Cyclops viridis.*

Fig. 20. Rk. I mit sechs x förmigen Chromosomen.

Fig. 21. Rk. I. Die Tetraden verkürzen und verdicken sich.

Fig. 22. Rk. I. Auseinanderweichen der Spalthälften der Tetraden.

Fig. 23. Rk. I. Die Spalthälften haben sich getrennt. Statt der sechs Tetraden sind nunmehr zwölf quergekerbte einfache Stäbchen vorhanden.

Fig. 24 *Cyclops albidus.*

Fig. 24. Rk. I. mit sieben 8-X förmigen Tetraden.

Fig. 25—26 *Cyclops strenuus* (Winterform).

Fig. 25. Frühe Diakinese. Doppelfadensegmente. Viele Nucleolen.

Fig. 26. Frühe Diakinese. Einseitige Verlagerung des Chromatinknäuels.

Fig. 27—28 *Cyclops viridis.*

Fig. 27—28. Frühe Diakinese. Einseitige Verlagerung des Chromatinknäuels.

Fig. 29—31 *Cyclops albidus.*

Fig. 29. Frühe Diakinese. Doppelstäbchen.

Fig. 30. » » Auflösung der Doppelstäbchen.

Fig. 31. » » Keimbläschenstadium.

Tafel V.

Fig. 32—46 *Cyclops phaleratus.*

Fig. 32. Blindes Ende des Ovars mit »Apikalzelle« (6 + 1 »*h*«). und Kernen des Keimpolsters.

Fig. 33. Ausschnitt aus dem Ovar. Von links nach rechts fortschreitend Entwicklung der Doppelfäden zu Doppelstäbchen. Frühe Diakinese.

Fig. 34. Drei Kerne aus dem mittleren Abschnitt des Ovars. Sechs Doppelstäbchen und das stärker gefärbte Heterochromosom »*h*« sichtbar. Im Plasma beginnt die Dotterbildung. Frühe Diakinese.

Fig. 35. Auflösung der Doppelstäbchen. Ovar. Frühe Diakinese.

Fig. 36. Die Doppelstäbchen werden wieder sichtbar. Ovidukt. Späte Diakinese.

Fig. 37. Sechs Doppelstäbchen (z. T. in heterochroner Entwicklung) und das Heterochromosom (»*h*«). Ovidukt. Späte Diakinese.

Fig. 38. Sechs Doppelstäbchen und das Heterochromosom (»*h*«). »Sekundärer« Längsspalt undeutlich sichtbar. Ovidukt. Späte Diakinese.

Fig. 39. Sechs Doppelstäbchen mit Querkerbe und Heterochromosom (»*h*«). Ovidukt. Späte Diakinese.

Fig. 40. Auflösung des primären Keimbläschens und Einstellung der Doppelstäbchen in die biseriale Anordnung. Ovidukt.

Fig. 41a. Biseriale Anordnung von oben. Sechs Ditetraden und das Heterochromosom (»*h*«). Ausgetretenes Ei.

Fig. 41b. Biseriale Anordnung von der Seite.

Fig. 42a. Anaphase I von der Seite.

Fig. 42b. Anaphase I von oben. In der einen Platte sechs Tetraden. In der andern sechs Tetraden und das Heterochromosom (»*h*«).

Fig. 43. Metaphase II des Eikerns und des Rk I. In einer Platte das nunmehr längsgespaltene Heterochromosom »*h*«.

Fig. 44. Doppelte Anaphase II.

Fig. 45. Doppelte Anaphase II in fortgeschrittenem Stadium. a) Ansicht von oben. Die Platten wurden in der Zeichnung gegeneinander verschoben, um sie alle sichtbar zu machen. In zwei der Platten sind auch die Spalthälften des Heterochromosoms »*h*« zu sehen. b) Ansicht von der Seite.

Fig. 46. Vereinigung der drei Richtungskörper zu einer Richtungskörpermasse.

Fig. 47—53. *Canthocamptus staphylinus.*

Fig. 47. Biseriale Anordnung. Ausgetretenes Ei. a) von oben. Zwölf Ditetraden. b) von der Seite. Plattenbildung.

Fig. 48. Anaphase I. a) von oben. In jeder Platte der doppelten Teilungsfigur befinden sich zwölf Tetraden. b) von der Seite. Doppelte Teilungsfigur.

Fig. 49. Umordnung der Tetraden zur Metaphase II.

Fig. 50. Metaphase II. a) von oben. In jeder Platte zwölf quergekerbte Stäbchen. b) von der Seite. Die Tetraden haben sich um 90° gedreht und in die Äquatorebene mit ihrem sekundären Längsspalt eingestellt.

Fig. 51. Doppelte Anaphase II von der Seite.

Fig. 52. Anaphase II vollendet. Vierfache Teilungsfigur. a) von oben. Vier Platten mit je zwölf Chromosomen. b) von der Seite. — *e* Eikern; p^2 Rk II; p^1 p^1 Teilungsprodukte des Rk I.

Fig. 53. Vereinigung der drei Richtungskörper p^1 p^1 p^2 zu einem einzigen Richtungskörper.

Tafel VI.

Fig. 54—58 *Diaptomus laciniatus.*

Fig. 54. Beginn der späten Diakinese. Ringförmige Chromosomenspuren. Ovidukt.

Fig. 55. Späte Diakinese. Ringe. Ovidukt.

Fig. 56. Späte Diakinese. Viergeteilte Ringe. Ovidukt.

Fig. 57. Auflösung des primären Keimbläschens und Neubildung des »sekundären« Keimbläschens. Es ist nur ein Teil des Kerns gezeichnet.

Fig. 58. Biseriale Anordnung. Ovidukt. a) von der Seite. b) von oben. 16 Ditetraden.

Fig. 59—68 *Diaptomus salinus.*

Fig. 59. Frühdiakinetischer Kern mit fedrigen Chromosomenspuren. Ovar.

Fig. 60. Keimbläschen mit Chromosomenspuren. Ovidukt.

Fig. 61. Beginn der späten Diakinese. Ovidukt.

Fig. 62. Späte Diakinese mit Doppelfadensegmenten.

Fig. 63. Ringe und Doppelstäbchen. Späte Diakinese.

Fig. 64. Doppelstäbchen. An einigen der »sekundäre« Längsspalt *l* sichtbar.

Fig. 65. Doppelstäbchen.

Fig. 66. Auflösung des primären Keimbläschens. Ditetraden.

Fig. 67. Aufstieg des sekundären Keimbläschens zur Eioberfläche. Sekundäre Dotterbildung. Ovidukt.

Fig. 68. Biseriale Anordnung. Ovidukt. a) von der Seite. b) von oben. 17 Ditetraden.

Tafel VII.

Fig. 69—90 *Diaptomus castor.*

Fig. 69. Ausschnitt aus einem Ovarium. Von links nach rechts Präsynapsis bis eigentliche Synapsis.

Fig. 70. Ausschnitt aus einem Ovarium. Von links nach rechts eigentliche Synapsis.

Fig. 71, 72, 73. Einzelne synaptische Kerne. Späteres Stadium als Fig. 70.

Fig. 74. Postsynaptischer Kern.

Fig. 75. Ausschnitt aus einem Ovarium. Von links nach rechts Umwandlung der Doppelfadensegmente in Doppelstäbchen- bis tetradenähnliche Figuren. Frühe Diakinese.

Fig. 76. Frühe Diakinese. Doppelstäbchen.

Fig. 77. Frühe Diakinese. Ringe.

Fig. 78. Frühdiakinetischer Kern mit Doppelstäbchen und Heterochromosom »*h*«. Ovar.

Fig. 79. Verschiedene Formen des Heterochromosoms.

Fig. 80. Regressive Metamorphose des Heterochromosoms »*h*«. Frühe Diakinese.

Fig. 81. Regressive Metamorphose des Heterochromosoms »*h*«. Frühe Diakinese. a) Heterochromosom ringförmig. b) Heterochromosom eine Achterfigur bildend. c) Heterochromosom von der Seite.

Fig. 82. Auflösung der frühdiakinetischen Chromosomen. Ovar.

Fig. 83. Keimbläschenstadium mit Chromosomenspuren. Ovidukt.

Fig. 84. Beginn der späten Diakinese. Vacuole im Kern.

Fig. 85. Späte Diakinese. Ringförmige Chromosomen. Heterochromosom »*h*«. Vacuole im Kern.

Fig. 86. Verschiedene Formen des Heterochromosoms.

Fig. 87. Auflösung des primären Keimbläschens und Neubildung des »sekundären« Keimbläschens um die biseriale Anordnung. Ovidukt.

Fig. 88. Einstellung der Ditetraden und des ringförmigen Heterochromosoms in die biseriale Anordnung.

Fig. 89. Biseriale Anordnung. 14 Ditetraden und ein Heterochromosom. Ovidukt. a) von der Seite. b) von oben.

Fig. 90. Biseriale Anordnung (der Fig. 88 entsprechendes Stadium). Das Heterochromosom bildet einen typischen Ring.

Tafel VIII.

Fig. 91—101. *Diaptomus castor.*

Fig. 91. Biseriale Anordnung (sekundäres Keimbläschen). Ausgetretenes Ei.

Fig. 92 und 93. Anaphase I von der Seite.

Fig. 94. Anaphase I von oben. Fortgeschrittenes Stadium. Im Eikern und im Rk I je 17 Tetraden.

Fig. 95. Rk I abgeschnürt. Im Eikern 17 Tetraden.

Fig. 96. Metaphase II von der Seite. Im Rk I 17 Tetraden.

Fig. 97—101. Verschiedene Stadien der Anaphase II — Telophase II.

Fig. 102—109 *Heterocope saliens.*

Fig. 102. Ovarausschnitt. Von links nach rechts die allmähliche Veränderung der Doppelfadensegmente. Frühe Diakinese.

Fig. 103. Chromosomenspuren. Frühe Diakinese. Ovar und Ovidukt.

Fig. 104. Bildung der Ringe. Späte Diakinese. Ovidukt.

Fig. 105. Langgezogene Ringe. Späte Diakinese. Ovidukt.

Fig. 106. Verengung der Ringe. » » »

Fig. 107 u. 108. Umwandlung der geschlossenen Ringe in viergekerbte Ringe.

Fig. 109. Einstellung der viergeteilten Ringe in die biseriale Anordnung.

On the Dimegalous Sperm and Chromosomal Variation of Euschistus, with Reference to Chromosomal Continuity.

By

Thos. H. Montgomery, jr.
University of Pennsylvania, Philadelphia.

With 1 figure in the text, and plates IX and X.

I. The Dimegaly of the Sperm Cells.

In my first paper on spermatogenesis[1]) the discovery of spermatocytes of two constant sizes was described on pp. 35—37, and summarized on p. 64 as follows: ,,There are 6 follicles in the testicle, two of which contain spermatocytes of about double the size of those in the other follicles. In all follicles the spermatogonia are of the same size. About the stage of synapsis the spermatocytes of the large generation commence to grow in size more rapidly than those of the small, and their larger size is due to greater increase in the amount of the cytoplasm, idiozome substance and nuclear sap: the amount of the chromatin is the same in spermatocytes of both generations. In the cells of the large generation the processes of the reduction divisions are exactly the same as in the cells of the small generation except that in the former the cells are larger." No one has since then restudied this phenomenon, or found a similar case in any other animal, for which reason I decided to reexamine this interesting instance.

First, a word is necessary as to the exact species of Hemipteron investigated, a matter of some importance now that it is well known that different species of the same genus may have different chromosomal

[1]) 1898. The spermatogenesis of Pentatoma up to the Formation of the Spermatid. Zool. Jahrb. 12.

relations[1]). The footnote on p. 2 of my paper of 1898 states „that the species here mentioned belong to the genus Euschistus." In two subsequent papers[2]) on the spermatogenesis of this genus I have distinguished two species, *E. variolarius* Pal. Beauv. and *E. tristigmus* Say, by comparing my material with mounted specimens of these insects determined by Dr. Uhler and in the collection of the Wagner Institute of Science, Philadelphia. But while *tristigmus* is a readily recognizable form, and my identification of it was probably correct, *variolarius* is on the other hand more difficult to distinguish from certain other species of the genus, thus it is highly probable that under the name *variolarius* I have included more than one species. Therefore I shall employ in the present paper the name „*Euschistus* sp." for what I have hereto-



fore called *E. variolarius*. The reader will understand, accordingly, that „*Euschistus* sp." probably includes more than one species, which fact, however, does not in any way impair the considerations of this study.

A longitudinal section of a testis of *Euschistus* sp. is shown in the adjoined text figure, in which the proximal end is at the left and the distal end (connecting with the vas deferens) at the right. The stippled areas mark groups of nurse cells that nourish the spermatozoa. It is seen to be composed of six tubular follicles or compartments disposed parallel, in two particular ones of which, those numbered 1 and 3 respectively, the spermatocytes at the end of the growth period, and conse-

[1]) Thus the difference which Payne (Some New Types of Chromosome Distribution and their Relation to Sex. Biol. Bull. 16. 1909) finds between his results and mine on the chromosomes of *Sinea* and *Acholla* seems to be due to my having interchanged the names on my material, a likelihood indicated by him.

[2]) 1901. A Study of the Chromosomes of the Germ Cells of Metazoa. Trans. Amer. Phil. Soc. 20. — 1906. Chromosomes in the Spermatogenesis of the Hemiptera Heteroptera. ibid. 21.

quently the spermatids and spermatozoa resulting from them, are much larger than in the other follicles. This relation was found to be constant in all of the 41 testes of *Euschistus* sp. examined, as well as all 4 testes of *E. tristigmus*. This size difference of the cells in the several follicles is very striking, and at once apparent with low powers of the microscope. In certain other Pentatomid genera (*Brochymena*, *Perillus*, *Nezara*, *Cosmopepla*, *Mormidea*, *Trichopepla*) no such constant size difference was found, or it is at least much less appreciable.

The details are as follows in *Euschistus* sp.

The spermatogonia of correspondent generation are of approximately the same size in all six follicles, as shown in figs. 8 and 16 of Pl. IX, from the second and third follicles respectively; the dimegaly does not arise until the growth period of the spermatocytes. This can be definitely decided by comparing actually equivalent stages of cells from different follicles. Now there are two generations of spermatogonia in the adult testis, and it is sometimes difficult to distinguish these with certainty, but by examining the early synapsis (synizesis) stage of the spermatocytes an exact comparison can be made, for this stage is immediately recognizable by the dense condensation of the nuclear chromatin. Fig. 37, Pl. X, represents a portion of a longitudinal section through parts of follicles 1 and 2; the septum is shown down the length of the figure, and to the left of it is follicle 1, to the right follicle 2. It will be seen that the germ cells of the synaptic stage, those cells with the massed chromosomes, are of approximately equal size in the two follicles. Yet the spermatocytes of follicle 1 will become several times larger than those of follicle 2. It results from a study of several testes that the dimegaly arises in the spermatocytes after the early synapsis stage, i. e., at the commencement of the growth period. This positive decision enables us at the same time to conclude definitely that spermatogonia of the same generation are of the same volume in all the testicular follicles.

This dimegaly is illustrated in the figures of Pl. IX all drawn from one testis (no. 282) and to the same scale. Spermatocytes at the end of the growth period, which is an approximate if not complete rest stage, are in follicles 1 and 3 (fig. 17, follicle 3) constantly of several times the volume of spermatocytes in the other follicles (fig. 9, follicle 2; fig. 27, follicle 4). Cells at the stage of first maturation spindle are similarly largest in follicles 1 (figs. 1—3) and 3 (fig. 18), considerably smaller in the other follicles (figs. 10, 11, follicle 2; fig. 30, follicle 5; fig. 34, follicle 6). In the same way the second spermatocytes of follicles 1 (figs. 4, 5) and 3 (figs. 19—23) are constantly larger than those of the other follicles (fig. 12

follicle 2). Consequently the spermatids of follicles 1 (fig. 6) and 3 are constantly larger than spermatids of the other follicles (fig. 13, follicle 2). The same relations can be seen in any one of the testes, and the case of figs. 57 and 58, Pl. X, exhibits the average comparative sizes of first spermatocytes from another testis. These relations are as described in my earlier paper, though then they were not followed beyond the stage of the early spermatid.

The comparison of the sizes of the full formed spermatozoa had to be made upon the study of rather thick sections, for smear preparations were impracticable since in them spermatozoa from different follicles would become mixed together. In such sections the whole head of the sperm can be found intact whenever the sperm bundles lie directly in the plane of the section, but the flagella are so much longer than the head, and often so sinuous, that they can never be followed with certainty in their full length. Thus only sperm heads could be compared and not the flagella. Only such spermatozoa were studied as lay at the distal ends of the follicles, all such sperm being fully formed. The results may be seen at a glance at Pl. IX: the sperm heads from follicles 1 (fig. 7) and 3 (figs. 24—26) are in all cases markedly longer than those from follicle 2 (figs. 14, 15), 4 (figs. 28, 29), 5 (figs. 31, 32) and 6 (figs. 35, 36). There is some individual variation in the length of the sperm heads of a particular follicle, as illustrated in the two extreme sizes from follicle 2 (figs. 14, 15), the three from follicle 3 (figs. 24—26), and the extremes of size found in follicles 4 (figs. 28, 29), 5 (figs. 31, 32) and 6 (figs. 35, 36). Whether the size differences of sperm from the same follicle are true individual differences, or only differences in state of locomotion (contraction), was not determined. But however this may be, the sperm heads of follicles 1 and 3 are invariably much larger than the largest from the other follicles . It is probable that there are even greater differences in the flagella, though this could not be determined. Sperm heads from the vas deferens also exhibit size differences like those found in the follicles of the testis.

The differences of the sperm heads seem to be one merely of size, especially length. The terminal acrosome (*a* of the figures) is usually a narrow thread, though sometimes branched, in the case of sperm of the first (fig. 7) and third (figs. 24—26) follicles, while it is more usually bifid in the case of the sperm of the other follicles (figs. 14, 15, 28, 29, 31, 32, 35, 36). This difference may, however, not be constant but be due to pseudopodial extension of this part, for it is this portion that comes in closest contact with the nurse cells.

But in addition to these major size differences there is a third or minor difference that was not specially noted in my first paper. It is that the spermatocytes, spermatids and spermatozoa of follicle 2 are invariably somewhat smaller than those of follicles 4—6. This second follicle is always the most narrow and is always constricted at one point (text figure). Thus on Pl. IX cells of the second follicle are represented in figs. 9—15, and it will be seen that the several stages there shown are always smaller than correspondent stages of the other follicles exhibited on the same plate.

Thus there are three constant size differences of the spermatozoa, the largest in follicles 1 and 3, the smallest in follicle 2, and ones of intermediate size in follicles 4—6.

Now what produces these cellular growth differences in the different follicles? In the paper of 1898 I concluded (p. 36) that „the greater size of the cells in the follicles 1 and 3 must be due to their receiving a greater amount of food than those in follicles 2, 4, 5 and 6. That is to say, the follicles 1 and 3 must be nourished by a richer blood supply". That conclusion was correct with regard to nutritional differences, but probably wrong is ascribing them to the direct difference of the blood received. For I now find that the size differences of the spermatocytes are due to differences in the follicular nurse cells of the testis. Each testis (text figure) has an elastic outer sheath, containing red pigment and numerous tracheae. Within this is a non-pigmented sheath, continuations of which compose the interfollicular septa. A portion of such a septum is shown in fig. 37, Pl. IX; it is composed of a dense tissue, shown by fine stippling, with occasional coarse fibrils, isolated small nuclei and scattered chromatin particles, and tracheae (*t*). Resting upon the inner surfaces of the inner sheath and the septa are the nurse cells, cells with delicately fibrillar cytoplasm and large nuclei (*fn.*) of quite irregular forms. These nurse cells are excessively branched, and their branches interlace between the sperm cells and bind them into spermatocytes. It would be impossible to follow all the branches of such a nurse cell without recourse to maceration methods, consequently I have no data to offer with regard to their cell bodies. But the relative sizes of their nuclei may be compared, even though the larger of these may extend over several sections. To determine whether the nurse cell nuclei differ in size in the several follicles, I have compared their proportions by drawing to scale with the camera lucida a considerable number of them from all the follicles of the testis. In doing this I chose at random every eighth or tenth section of a series so as to exclude drawing any one nucleus twice, drew only those follicle

cell nuclei in the vicinity of the spermatocytes of the growth period (the period where the dimegaly of these germ cells first manifests itself), and from each such portion of each follicle I drew the largest nucleus present. This was done without determining whether the greatest diameter of a nurse cell nucleus lay in the section drawn, for that would have involved very much additional labor. Such drawings were made on 41 sections of three different testes, with the following results, the numbers given representing the number of cases:

Follicle	Largest Nucleus	Next Largest Nucleus
1	27	6
2	0	0
3	9	21—22
4	1	3
5	17	4
6	3	5—6

Though the method used was far from precise it gives the result that the largest nurse cell nuclei occur in follicles 1 and 3 in 87,9% of all cases, the next largest in follicles 1 and 3 in 65,6%, while in not a single section was the largest nurse cell nucleus found in follicle 2. Now when we recall that the spermatocytes of follicles 1 and 3 are the largest of all, and those of follicle 2 the smallest, a significant correspondence becomes evident: the largest nurse cell nuclei are associated with the largest spermatocytes, the smallest with the smallest spermatocytes. The actual voluminal differences of the nurse cell nuclei are to be seen in fig. 37, Pl. X: on the left side of the figure are seen five nurse cell nuclei (*f, n*) of follicle 1, and on the right one such nucleus of follicle 2, this figure presenting a fair example of the average differences. The proportion of largest nurse cell nuclei in follicles 1 and 3 would probably have been greater had I taken pains to draw the greatest actual diameter of each.

Whether the size of the body of a nurse cell varies directly with the size of its nucleus was not decided for reasons stated. But from what we know of cell metabolism in general we may conclude that in a homogeneous group of cells one with a larger nucleus is more active than one with a smaller. There can also be little question that these nurse cells are providers of food for the germ cells. It would then follow that those nurse cells with larger nuclei are the most active in elaborating food material for the spermatocytes, and the difference in the size of the spermatocytes be then due directly to such differences of the nurse cells.

Certain it is that the dimegaly of the sperm cells is occasioned by some outside influence during their early growth period, for the spermatogonia of a given generation exhibit no appreciable differences among themselves. And since the dimegaly is a voluminal difference it must be referable to a difference in the food supply, and this in turn to size (consequently amount of activity) of the nurse cell nuclei. This seems a consistent and satisfactory answer to the problem.

Thus far we have considered only the phenomenon of the dimegaly and the reason for the differences in total cell volume; it is now in place to compare the behavior of the different constituents of the cells. When we compare spermatocytes at the end of the growth period, one from follicle 2 (fig. 9, Pl. X) and one from follicle 3 (fig. 17), we find the size differences of the nuclei are relatively less than those of the cell bodies[1]). The chromatin mass of the nuclei appears relatively constant, it is the karyolymph that differs in amount in spermatocytes of different sizes, consequently the larger nuclei appear clearer than the smaller. The mantle fibres, those that connect the chromosomes with the centrosomes, are of nuclear origin, and their mass is relatively greater in the larger spermatocytes (fig. 18) than in the smaller (fig. 10), though again the voluminal differences of these fibres is not as great as that of the cytoplasm. But most remarkable is the fact, that I pointed out eleven years ago, that despite differences in the cell volumes the chromosome sizes remain constant! If one compares chromosomes of the first maturation division of large spermatocytes (Pl. IX, figs. 1—3, 18) and of small spermatocytes (figs. 10, 11, 30, 34) no appreciable size differences are noticeable; the same relation is to be seen also in figs. 57 and 58 of Pl. X. This comes out equally clearly on comparing chromosomes of the second maturation spindle from the large cells (figs. 23) and those of the small (fig. 12). The nuclei of the early spermatids are larger in the large spermatocytes (fig. 6) than in the small (fig. 13) but it is a difference in amount of the karyo-

---

[1]) Within any nucleus of this stage there is to be seen besides the linin network with the chromatin upon it, a diplosome or modified chromosome (*e*) as well as a true plasmosome (*p*). Though I have described these structures before I mention them again because Foot and Strobell (1909. The Nucleoli in the Spermatocytes and Germinal Vesicles of *Euschistus variolarius*. Biol. Bull. 16) have denied the concomitant presence of both of these organs in these cells, and have scarcely considered my detailed descriptions of them. Evidently either their method of smear preparations produced a collapse of the plasmosome, or else they did not employ an adequate staining method. With the safranine-gentian violet stain of Hermann plasmosome and diplosome may be sharply differentiated.

lymph and not in mass of chromatin. In this object the chromatin mass does not vary with the size of the cell. The chromosomes in all six follicles agree in number, volume, mode of conjugation and division, and therefore cannot be the cause of the dimegaly. A large spermatocyte of follicle 1 or 3 is several times the volume of a small one of follicle 2, yet no appreciable size differences of the chromosomes of the two can be found.

It is curious that with this constancy of chromatin mass from the spermatocytes up into the spermatids the sperm heads should differ so much in volume. But suitable staining shows that the sperm head possesses a hollow peripheral cylinder of chromatin, not a solid rod of it. It is then probable that the size of the sperm head depends upon the amount of the karyolymph in it, and this amount will determine whether she sperm head be short or long. The mass of chromatin is probably the tame in both large and small spermatids, for it is not probable that the mass of this substance should change during the histogenesis of the spermatozoon. Therefore it is probable that the large sperm possess no more chromatin than do the small, though the heads in the former are much larger.

The dimegaly expresses itself accordingly in difference of amount of karyolymph, and of the substance (linin) that composes the mantle fibres, but much more markedly in amount of cytoplasm. There is a substance that varies in amount directly with the size of the cell quite as much as the cytoplasm does, and that is the mitochondrial substance. At the commencement of the growth period there lies at a particular pole of the nucleus a body (*i*, fig. 37) which is at this stage of equal volume in cells of all the follicles. Just what this body is from the morphological standpoint I wish to leave for later decision; but it seens to be an idiozome (Nebenkern) within and around which mitochondria (seemingly of nuclear origin) appear. For present purposes we will speak of it as the mitochondrium. This mass increases directly with the amount of the cytoplasm: in the largest spermatocytes it is largest (*i*, fig. 17), considerably smaller in the smaller spermatocytes (figs. 9, 27). In the early spermatids it is a much larger mass in the larger cells (*i*, fig. 6) than in the smaller cells (*i*, fig. 13).

There is no evidence in any part of the spermatogenesis that cells cut off any of their substance. There is also no evidence that in any of the follicles the spermatozoa degenerate, therefore all may be functional.

II. General Results from the Preceding.

The observations just presented allow these main conclusions:

1. In follicles 1 and 3 of the testis of *Euschistus* sp. the spermatocytes, spermatids and spermatozoa are constantly much larger than in follicles 4, 5 and 6, while in follicle 2 they are constantly somewhat smaller.

2. This is a voluminal difference, apparently not associated with dimorphism of the spermatozoa, due to constant differences in volume in the several follicles of mass of karyolymph, linin (substance of mantle fibres), cytoplasm, and mitochondrial substance.

3. The chromosomes, however, are constant in their behavior in all the follicles with regard to number, mass, mode of conjugation and of division.

4. The dimegaly of the spermatocytes arises in the early growth period, and is due directly to differences of the nurse cells of the different follicles, i. e. to degree of nutrition.

These results lead to the following ones of greater import:

5. The growth of germ cells may be modified by their trophic environment, and dimegaly of spermatozoa may be produced otherwise than through intrinsic differences. Our observations would show that these germ cells become as much modified by amount of nutrition received as do somatic cells.

6. It is possible that the amound of those substances, cytoplasm, karyolymph, linin, mitochondria, which vary according to the size of the spermatozoa, may be of use in determining the relative value of the sperm in fertilization, consequently sex. With the head of sperm is introduced into the egg all of these substances, and it is possible that in a considerable number if not all cases the whole spermatozoon may enter the egg; that is certainly the case with the sperm of *Ascaris*. The observations showing that the sperm flagellum is left outside of the egg are few in number, and much more evidence is necessary before we can put it down as a rule that only the head and middle piece enter. But with the penetration of head and middle piece much more than chromatin is introduced, consequently the chromosomes alone need not determine the sex. This is put forth simply as a suggestion to be tested.

7. The relative constancy of chromatin mass in spermatocytes and spermatids of very different volumes speaks strongly for its enzyme nature. *Euschistus* presents a very beautiful and decisive natural experiment in which cells of the same kind receive different degrees of nutrition, and in which despite marked growth differences of other substances the mass of chromatin remains very constant. Further, while a spermato-

cyte (fig. 18, Pl. IX) is many times the size of a spermatogonium (fig. 16) the difference in volume between the univalent chromosomes of the two is very much less; in making the comparison between the chromosomes of these two cells the reader will recall that one half of any bivalent element of the spermatocyte is to be compared with a single element of the spermatogonium. After a mitosis in *Euschistus* each daughter chromosome grows to the size of the mother chromosome, but grows no more than that or only little more. In accord with this is the well known fact that the sperm introduces into the egg chromosomes of the same size, and of equal total mass, as those present in the matured egg, though the egg is many times greater than the sperm. An enzyme possesses among other properties the power of engendering changes in its medium while still preserving a constant mass. Of all the larger cellular compounds that we know the chromosomes agree most closely with this definition, and by reason of this constancy of mass alone might be considered enzyme masses. Chromosomes effect a most active metabolism during the growth period of the germ cells, yet at the end of this period, in the first maturation spindle, are not greatly different in volume from what they were at its commencement. The mass of the karyolymph, linin, cytoplasm and mitochondria is readily changed by the degree of nutrition, the totality of their mass is also much greater, wherefore it is probable they play a minor part in metabolism and consequently in inheritance.

III. Chromosome Variation in Euschistus sp.

The questions to be determined are the following: 1. is there any variation in the number or behavior of the chromosomes in cells of the same generation of the same individual; and if so, 2. does such variation speak for or against the theory of the individuality of the chromosomes?

In the first place we need recall the normal or usual course of the spermatogenesis, according to my previous account (1906). E. B. Wilson[1]) has emended my earlier observations (1898, 1901) in one respect, whith regard to the behavior during the maturation mitoses of the pair of modified chromosomes. Wilson called these bodies ,,idiochromosomes"; I proposed (1906) to call the ordinary chromosomes ,,autosomes", and the modified ones ,,allosomes"; and such allosomes as occur in pairs during the spermatogenesis I proposed to term ,,diplosomes"; this terminology will be followed in the present paper. The normal process is as follows. There are 14 chromosomes in the spermatogonia, one of which is very

[1]) Studies on Chromosomes III. Journ. Exper. Zool. 3. 1906.

much smaller than any of the others and is the smaller diplosome (*d*, figs. 8, 16, 33, Pl. IX; 38, Pl. X). The larger diplosome is either the chromosome next in size, as I held, or one of the still larger ones, as Wilson maintained, but it is difficult to be certain of this larger diplosome at this stage. There are then 6 pairs of autosomes or ordinary chromosomes, the two of each pair of equal size, and one pair of diplosomes or modified chromosomes of very unequal size. All these divide in the spermatogonial mitoses. In the growth period, which was not studied by Wilson, I found (1906): „In the synapsis the 12 autosomes conjugate to form 6 bivalent ones. The diplosomes also always unite then end to end", and the latter are readily recognizable in the growth period by maintaining their compact structure and density. The diplosomes separate from each other just before the first maturation division, so that in the spindle (figs. 2, 10, 11, 18, 30, 40, 41, 57, 58) there are 6 bivalent autosomes and 2 univalent diplosomes, a total of 8 elements (1 more than half the number in the spermatogonia). In the first maturation mitosis the 6 autosomes divide reductionally, and the 2 diplosomes equationally. Each second spermatocyte receives, accordingly, 8 elements (fig. 21, Pl. IX), and in each before its division the unequal diplosomes conjugate to compose a bivalent (*d*, *e*, figs. 4, 22, Pl. IX; fig. 52, Pl. X) — this important phenomenon discovered by Wilson. In the second maturation mitosis each autosome divides equationally, but the bivalent diplosome reductionally (*d*, *e*, figs. 5, 12, 23, Pl. IX; fig. 61, Pl. X), consequently each spermatid receives 6 autosomes and 1 of the 2 diplosomes (a total of 7 elements, just half the spermatogonial number).

Such is in brief the normal course of the spermatogenesis, and my renewed study of the past summer has confirmed it. We will find that this occurs in the greater percentage of the cells. But there are departures from it that need explanation. For this purpose I have counted the chromosomes in the equatorial plates of the spermatogonia and first and second spermatocytes in six testes from different individuals. The chromosomes of the spermatids are often so densely crowded that accurate counts of them are much less easy to make, hence these are included in only a couple of instances. The phenomena will be described for each testis separately, so as to determine the variation in cells of one and the same individual. So far as I recall such large statistics have never been presented before on corresponding cells of the same spermatogenesis; for Wilson's study of *Metapodius*[1]) considered differences not in the same individual but in different individuals of the same species.

---

[1]) Studies on Chromosomes III. Journ. Exper. Zool. 3. 1909.

A word as to the method of counting. Only those cases were selected where all the chromosomes lay in the plane of the section and were so separated as to be readily counted. The chromosomes were drawn from polar views of equatorial plates, then counted on the drawings. No case was included where there was a reasonable doubt as to their number. On account of the large number of counts made, probably the largest number up to this time on any one species, a number of errors may have been made. But the material is exceptionally favorable for such an examination on account of the small number and relatively large size of the chromosomes. Then my attitude of mind was fairly objective, far I had no wish to prove either constancy in number or inconstancy, my intention being simply to learn how much inconstancy there might be[1]).

The following table presents the results of these counts for six testes of *Euschistus* sp. The numbers of the particular testes are given on the left, while in the vertical columns are stated the number of cells counted arranged according to the number of separated elements irrespective of the valence of such elements. Thus the bivalent diplosome of the second spermatocytes is counted as 1, just as is each bivalent autosome of the first spermatocytes. The starred chromosomal numbers on the upper line represent the normal or usual condition.

Testis	Spermatogonia			First Spermatocytes				Second Spermatocytes			
	13	*14	15	*8	9	10	11	6	*7	8	9
no. 103		10		45		1			51	1	
no. 105				22	3				47		
no. 106		10		43	3			1	44		
no. 120		4	4	67	26	3	2	1	138	6	2
no. 282	1	15		89	12			1	177	1	
no. 286				70	6				201	1	
Summary:	1	39	4	436	50	4	2	3	658	9	2

We may now consider the details for each testis by itself.

Testis no. 282.

The table shows that in each of 15 instances exactly 14 chromosomes were found in the spermatogonia. In a 16th cell only 13 were seen, which

[1]) In my paper of 1906 I found that the spermatogonia "show in most cases 14 chromosomes . . . . But in one case there were clearly 15 . . . . And now I find two clear cases each with 16 chromosomes". I have reexamined these cases of 16 chro-

was probably due to obscuration of the smallest element, the smaller diplosome; there is hardly a chance of this small element being actually lacking from this cell, the probability is that it is merely hidden by another chromosome, for in all the other polar views of spermatogonia (*d*, figs. 8, 16, 33) it was recognizable as well as in all first and second spermatocytes.

But while 89 first spermatocytes showed each the normal number of 8 elements (figs. 2, 10, 11, 30, 34), 12 of these cells exhibited each 9 separated elements (figs, 1, 3, 18). When one compares the latter cases with the former it is found that the higher number 9 is due to the separation of the two components of one of the normally bivalent autosomes. For in the normal cases, with 8 elements, no two of the chromosomes are ever exactly equal in volume but the series of them presents a range of sizes. When there are 9 elements, two of them always resemble each other in size (*s*, figs. 1, 3). This variation is always just 1 more than the normal number, never 1 less, and is always associated with the phenomenon of 2 of equal size. In these abnormal cases the separated univalent chromosomes divide separately and equationally, just as the diplosomes do, the proof of which is as follows. The second maturation mitosis follows immediately upon the first without any change in consistency of the chromosomes, consequently there is no possibility of any recombination of particles from different chromosomes. Polar views of each daughter plate of the anaphase of the first maturation division show normally 8 separate elements (fig. 21), which are 6 constricted (longitudinally split) autosomes, and 2 still separated but non-constricted diplosomes (*d*, *e*) of very different volumes. All of these 8 are clearly the daughter of the 8 of the preceding equatorial plate, and the mode of division of them was detailed in my earlier papers. But occasionally 9 separate elements are seen in a daughter plate of the anaphase of the first maturation (fig. 20, 19; in the latter figure only the lower half should be considered, for in the upper cell the chromosomes were so densely massed that only five of them could be seen distinctly). Now when we compare figs. 19 and 20 with fig. 21 we find in all a larger and a smaller non-constricted diplosome (*d*, *e*), but while fig. 21 shows 6 constricted autosomes, figs. 19 and 20 exhibit each 5 constricted autosomes and 2 non-constricted ones (*s*, *s*) of equal volumes. These 2 non-constricted autosomes of equal volumes of figs. 19 and 20 are then clearly the daughters of the 2 univalent autosomes of equal volumes of the first spermatocyte (*s*, figs. 1, 3). These elements of the ab-

mosomes and believe that my previous supposition was correct, that this number is due to precocious division of two of them.

normal anaphases indicated by the letter *s*, or the „*s*-chromosomes" as they may be termed for brevity, show no sign of the constriction or longitudinal split that the other autosomes exhibit, which is readily explainable on the view that each of them had divided along the line of this split in the first maturation mitosis.

How do these 2 *s*-chromosomes behave in the second maturation spindle? From what we have just learned it is certain they do not divide equationally for they did that in the first mitosis, and we do not know any case in animal spermatogenesis where a chromosome divides equationally twice in the maturation mitoses. It is then probable they divide reductionally in the second mitosis, i. e. that one passes to one pole and the other to the other pole of the spindle, just as the diplosomes do. It is further probable that the *s*-chromosomes like the diplosomes conjugate in the equator of the second maturation spindle before dividing there reductionally, and for the following reason. In all the 179 polar views (except 2) of second maturation spindles the condition was found represented in fig. 22; 6 autosomes and 1 bivalent diplosome (*d*, *e*, and this in most cases in the centre). Now in 11,8% cases of first spermatocytes there was 1 separate element more than the normal, therefore in the same percentage of cases there should be expected 1 more than the normal in the equator of the second spermatocytes; since this anticipation is not realized it is probable that in those second spermatocytes with *s*-chromosomes these conjugate to make a bivalent chromosome. This is the only satisfactory explanation of this numerical relation. The two exceptions mentioned among the 179 second spermatocytes were these: one with 8 separated elements (fig. 4) due probably to the *s*-chromosomes failing to conjugate: and one case with only 6, for which I have only the explanation that one chromosome may have been hidden beneath another.

In testis no. 282 accordingly, the number of spermatogonial chromosomes appears to be constant. But while there are usually 8 separate elements in the first spermatocytes, in 11,8% of the cases 9 were found: this variation is due to the precocious separation, or failure to conjugate, of the 2 univalent components (*s*-chromosomes) of one bivalent autosome; these *s*-chromosomes divide separately and equationally in the first maturation mitosis, and in the second mitosis in most cases conjugate in the plane of the equator and separate reductionally. Notwithstanding this variation of behavior the number of univalent chromosomes in the first spermatocytes is 14, just as in the spermatogonia.

In 24 spermatids the number of chromosomes was found to be in all cases 7.

Testis no. 105.

Chromosomal variation just as in the preceding, 3 out of 25 first spermatocytes having 9 instead of 8 separate elements. All 47 second spermatocytes exhibited 7 elements.

Testis no. 286.

Another case like testis no. 282, 6 out of 76 first spermatocytes having 9 instead of 8 separate elements. Of 202 second spermatocytes all but 1 showed 7 separate elements; the exception is exhibited in fig. 60, Pl. X, and is due to lack of conjugation of the diplosomes (the only instance found of such an abnormality in any of the testes), for the smaller diplosome (*d*) lies by itself and not in apposition to the larger.

Testis no. 103.

All 10 spermatogonia showed 14 chromosomes. 45 first spermatocytes showed each 8 elements, just as in testis no. 282, while 1 showed 10. In the latter exceptional case (fig. 59, Pl. X) 4 elements, those lettered *s*, appeared of less depth than the others and made up two pairs, the 2 of each pair being of equal volumes. This is readily explained as a case where the univalent components of 2 of the normally bivalent autosomes have precociously separated or have failed to conjugate. 51 second spermatocytes exhibited each the normal condition of 7 separated elements, but 1 showed 8; the latter case (fig. 61) shows an additional minute element (*x*) smaller than the smaller diplosome (*d*) and I cannot explain its presence for nothing like it was found in any other cell of this testis; may it have been a yolk globule, for in this preparation yolk globules were not differentiated by staining from chromosomes?

Testis no. 120.

This individual exhibited more complicated variation than the others, due to occasional presence of minute supernumerary elements.

4 spermatogonia showed each 14 chromosomes (fig. 38, Pl. X), the smallest being the smaller diplosome (*d*). 4 others showed distinctly 15 each (fig. 39); the additional member would appear to be that one a little larger than the smaller diplosome, as we may conclude from a comparison of them in the later stages: and these later stages also indicate that some of the spermatogonia may have 16 elements though I have never found this number with certainty (vide infra).

In the first spermatocytes in 67 out of 98 cases, there are 8 separated elements all of which divide (figs. 40, 41), the smallest of them being the smaller diplosome (*d*). These are similar to the normal cases of the other testes described. But the following abnormalities were found:

1. 8 larger elements in addition to the smaller diplosome, giving a total of 9, but no small supernumerary elements. Such cases are shown in figs. 42—44. They differ from the normal in having a pair, *s*, of equal volume, always placed near each other and usually in the centre of the spindle. Such cases are precisely like the exceptional ones of testis no. 282, and that these *s*-chromosomes divide is well shown in the case of fig. 43.

2. In addition to the 8 normal elements there may be present 1 or 2, never more, supernumerary small elements, giving a total of either 9 or 10. These supernumeraries are lettered *x* in figs. 45—47, Pl. X (none of which show the total number of chromosomes) and fig. 49. When 2 occur they are of approximately equal size, they generally appear slightly larger than the smaller diplosome (*d*) and may be distinguished from it by the fact that they are not bipartite. These supernumeraries are marked by constancies of size and form. When only one is seen it is probable the other is not absent but hidden behind another chromosome. It is on account of the occasional presence of 2 of these that I suggested some spermatogonia might contain 16 separate elements. They are not always but sometimes attached to a larger chromosome, as evidenced in figs. 45—47 and their attachment to one end of a larger chromosome is the more usual, while the smaller diplosome never holds such a position in this stage. Sometimes both are nearer one spindle pole than the other (fig. 47). It would seem that they do not divide in this mitosis since they never appear bipartite.

3. There may be combinations of the two preceding variations, presenting a total of either 10 or 11 elements. Thus there may be 2 *s*-chromosomes (*s*, fig. 51) and 1 supernumerary (*x*), or 2 *s*-chromosomes and 2 supernumeraries (fig. 48, 50).

Chromosomes were counted in 147 second spermatocytes. 138 of these showed the normal condition of a bivalent diplosome and 6 peripheral autosomes (fig. 52). In some cases it is probable, on the reasoning employed for testis no. 282, that one of these autosomes may be a bivalent formed by the conjugation of the 2 *s*-chromosomes. One case exhibited only 6 separate elements, possibly due to the 7th being hidden beneath another. Six cases exhibited the following variations: 1. No supernumerary element, but the *s*-chromosomes separated (fig. 53), making a total of 8. 2. The normal condition with the addition of 1 super-

numerary (x, fig. 55), again a total of 8. 3. The normal condition with the addition of 2 supernumeraries, a total of 9 (fig. 54). In the second spermatocytes the smaller diplosome can always be recognized by its smallest size; and the supernumeraries may or may not be attached to others.

In the anaphases of some but not all second spermatocytes the condition of fig. 56 is found, one or two of the chromosomes of each daughter plate being drawn out into a long thread parallel with the connective fibres; perhaps these represent chromosomes that had behaved abnormally in preceding stages. They move more slowly towards the spindle poles than the others do, but are never left at the equator. Such a condition I have never seen in other testes of this species.

In the few instances where the chromosomes could be counted in the spermatids, 7 were found in 6 cases, and 8 in 3 cases[1]).

IV. Conclusions on the Chromosomal Variation.

1. In the first kind of chromosomal variation determined the number of the univalent elements is constant and the same in the spermatogonia and first spermatocytes. In 41 spermatogonia the number found was exactly 14; a single case exhibited only 13, which is certainly due to the smaller diplosome being hidden and not to any variation in number. This variation consists in abnormal separation of the univalent components of a normally bivalent chromosome, or in much rarer cases of the abnormal separation of the univalent components of two normally bivalent chromosomes. Whether this variation affects only a particular autosome (ordinary chromosome) was not determined. Such separated univalent components, the *s*-chromosomes, divide equationally in the first maturation mitosis, and in the following mitosis separate reductionally usually after conjugation in the plane of the equator of the spindle, only in a few cases do they fail to conjugate at that time. As a result of this kind of variation all the spermatids receive the same number of chromosomes. This is then a variation in the number of the bivalent chromosomes of the first spermatocytes, and though there may be 8 (the norm) or 9 or 10 separate chromosome masses in the first maturation spindle, the total number of univalent elements there is always 14 as in the spermatogonia. This variation does not follow any law of change, it is in no

---

[1]) In 22 spermatogonia of *E. tristigmus* exactly 14 chromosomes were found, and in 1 only 13.

way fluctuation of number, but variation with regard to mode of conjugation of chromosomes. Quite similar cases of such variation have been described by me before (1901, 1906) but in much less detail, for *Harmostes reflexulus*, *Corizus alternatus*, *Chariesterus antennnator*, *Tingis clavata* and *Oncopeltus fasciatus*; and by WILSON[1]) for *Lygaeus turcicus*.

2. The other kind of variation found is due to the occasional presence of supernumerary chromosomes, never more than 2 in number, found only in testis no. 120. There may be in the spermatogonia, first and second spermatocytes either 1 or 2 of these. These supernumeraries are adequal in volume, constantly a little larger than the smaller diplosome, exhibit therefore constant diagnostic qualities, and do not appear to divide in the maturation mitoses. This kind of variation does produce an actual variation in the total number of the univalent chromosomes, for these may vary in number from 14 (the norm) to 15 or 16. This variation is due to the addition of new individuals to the normal series. The probability that they do not divide at the first mitosis of maturation would indicate that they may be unequally distributed from cell to cell, which again would account for their apparent absence in some cells. Further, this kind of variation would result in unequal distribution of chromosomes in fertilization, and in this way the supernumeraries might be passed over to some individuals and not to others.

3. In a single case out of 672 the 2 diplosomes failed to conjugate in the second maturation spindle.

4. The phenomena of chromosomal variation in *Euschistus* do not in any way indicate that chromosomes are variable chromatin complexes, in the sense of being reformations of the chromatin from one cell division to another. On the contrary constant sizes and forms of the particular univalent chromosomes reappear from one mitosis to another, one of the strongest proofs that they are persisting individualities. The chromosomal fluctuation is in no way chance variation. Were the chromosomes temporary variable combinations of the chromatin, subject to rearrangements of their substance between one mitosis and another, no explanation would be available for the consistency of the phenomena in *Euschistus*.

5. Such variations in the behavior of germ cell chromosomes might well be the basis of congenital variations. And a form such as *Euschistus*, that exhibits chromosomal variation in a fairly large percentage of cases, might well be in a period of species formation. The variations in the

---

[1]) 1905. Studies on Chromosomes. I. Journ. Exper. Zool. 2.

mode of conjugation of the chromosomes must have their origin in the changes of the synapsis stage, and it is in this important stage that variations may perhaps be most frequently engendered.

6. Finally we may consider what relation there may be between the first kind of variation, that of the *s*-chromosomes, and the dimegaly of the spermatocytes; that is, whether the larger spermatocytes exhibit more or less variation of the chromosomes than do the smaller spermatocytes. Such chromosomal variation was found in spindles of the first maturation mitosis in follicle 1 in 34,3% of 35 cells; in follicle 2 in 21,8% of 55 cells; in follicle 3 in 20,8% of 53 cells; in follicle 4 in 7,6% of 79 cells; in follicle 5 in 4,6% of 109 cells; and in follicle 6 in 4,7% of 64 cells. These cells were from all the particular six testes described above. Thus the largest spermatocytes (of follicles 1 and 3) and the smallest (of follicle 2) exhibit the greatest amount of variation (20,8% to 34,3%) while the spermatocytes of intermediate size (from follicles 4—6) show much less variation (4,6% to 7,6%). In other words, the best nourished and the least nourished cells possess the greatest amount of chromosomal variation. It is then perhaps permissible to conclude, if we may rely upon such small figures, that chromosomal variation may stand in some connection with the trophic environment, and therefore variation in general be due ultimately to external stimuli.

V. Paolo Della Valle's Views on Chromosomal Variation; and the Continuity of the Chromosomes.

Paolo della Valle[1]) has recently expressed conclusions on variation in chromosomal number that are so diametrically opposed to my own, that his views may fittingly be reviewed at this place.

His main conclusion is that: „The chromosomes should be considered as temporary and variable organizations of chromatin, which form in the prophase and dissolve in the telophase", which do not continue as entities from one mitosis to another, and the number of which is consequently subject to individual fluctuation. Their number according to him is simply the quotient of the quantity of chromatin and the average size of the chromosomes, and the normal numerical variability is a reflection of the organization of the chromatin; by „organization" is meant the complex of granules that compose the chromatin. Increase in the number

[1]) L'Organizzazione della Cromatina studiata mediante il Numero dei Cromosomi. Archiv. Zoologico. 4. 1909.

of chromosomes may be due to better conditions of nourishment, and variability in number to external conditions. The variability of their size in a particular mitosis corresponds to partial variability, and that of them in two different mitoses to individual variability. The diverse size of the chromosomes is the expression of the association of a greater or less number of chromatin elements, of a practically infinite number, in groups variably numerous according as the conditions are favorable in which they segregate. The variability in number generally follows the law of chance; but some cases may be considered true mutations (as change in number in the body cells of *Ascaris*). In somatic cells the variability is probably more than in the germ cells.

Della Valle's only new observations that he brings in favor of his view are counts of the number of chromosomes in 40 mitoses of the peritoneal mesothelium of larvae (exact stage not stated) of *Salamandra maculosa*. He chose this object on account of the large size and extreme flatness of the cells, which could be studied without the section method. These counts resulted as follows:

No. of chromosomes	19	20	21	22	23	24	25	26	27
No. of mitoses	1	0	1	1	6	16	12	2	1

He considers that these counts positively demonstrate a numerical variability of the chromosomes in cells of a homogenous group. Since they compose the whole of his new evidence they should be faultless, but I think we may make the following objections to them: 1. The chromosomes counted are long, sinuous ribbons, that overlap and interlace, the most difficult kind to count with accuracy. 2. He included in the counts some cells in prophases, where one cannot be certain that all the chromosomes have fully separated. 3. The total number of the chromosomes is so large, about 24, that the chance of error in enumeration is great. It is but fair to conclude that while his technique was excellent, his choice of material was bad, consequently a degree of scepticism might well be maintained towards his results.

Then Della Valle brings together from the scattered literature all cases implying that the number of chromosomes is variable in cells of the same generation from the same species. He has done a great service in calling attention to these cases in plant as well as animal cells. When one examines the long lists of them one might well believe at first sight that they furnish a formidable array of evidence for his conclusions. But in the first place he holds that constancy in number is essential for the theory of chromosomal individuality, and if there is no such constancy

there cannot be continuity of chromosomes. But such constancy is by no means necessary for our theory, for it is based most strongly upon the phenomena of the regular recurrence from one mitosis to another of particular chromosomes, or pairs of them, constantly recognizable by peculiarities of form, size and behavior, and upon the phenomena of the recognizable persistence even during the rest stage of the modified chromosomes (allosomes). The literature on insect spermatogenesis is replete with such cases, and demonstrates that in some instances chromosomal continuity may be associated with inconstancy of number of chromosomes, as my present study of *Euschistus* and WILSON's study of *Metapodius* show. DELLA VALLE objects to WILSON's results the difficulty of recognizing particular chromosomes with absolute certainty; but he fails to notice that in many such instances there is no such difficulty.

In the second place many of the cases that DELLA VALLE cites from the literature in support of his thesis really do not furnish any evidence for it, and we may mention some of these. Thus in the cases of *Trichopepla*, *Metapodius* and *Anasa* the chromosomal variability is due, according to all describers except FOOT and STROBELL, to the presence or absence of a particular, definite allosome. Some other cases entered in his list do not really embody individual variability in the number of the univalent elements, but variability in the number of the bivalent chromosomes of the first maturation spindle, as *Euschistus*, *Harmostes*, *Corizus*, *Chariesterus*, *Lygaeus* and *Tingis*. Certain others of his list are not admissible cases, e. g.: the parthenogenetic (therefore abnormal) cleavage cells of *Strongylocentrotus*; the spermatogonia of *Syrbula*, for which I stated that my material probably comprised more than one species; and the case of the erythrocytes of *Salamandra*, where the observer (TÖRÖK) paid no particular attention to the number of the chromosomes and DELLA VALLE counted them upon the published figures of this observer! Other cases have no reliability on account of the small number of chromosomal counts, such as *Leptynia*, *Pyrrhocoris* and *Homo*. In some other instances tabulated by him it is practically certain that the numerical variation obtained was due to chromosomes being hidden or partially obscured, or to the difficulty of deciding whether a constricted chromosome should be counted as 1 or 2 (a mistake I have made in some of my earlier papers). Again it is curious that for *Ascaris megalocephala* he cites only VOM RATH and WASILIEWSKI, but does not mention BRAUER or HERTWIG. Further, DELLA VALLE unjustifiably tabulates different counts as given in successive papers of a particular author, whereas he should have tabulated the results of only the last (revised) paper; and

most strangely of all he enters as proof of chromosomal variability the different counts reached by different observers on the same object, whereas such differences are almost certainly due to differences in the personal equation and degree of observational experience. In the latter manner he treats the cases of *Artemia* and *Anasa*.

On the whole, therefore, we may fairly say that many of the cases from the literature adduced by DELLA VALLE in favor of his views should be stricken from the list for the reasons just given. At the same time there are certain cases that cannot be thus explained away, and we will return to them later.

DELLA VALLE presents a detailed criticism of the methods of counting chromosomes, and concludes by preferring the smear method to sections, and the study of cells in thin transparent membranes to either. This criticism well deserves reading, for accurate counting of chromosomes is most difficult as all those understand who have had the experience. He maintains that the counts of those who support the theory of the individuality of the chromosomes are scarcely to be trusted on account of their methods, yet he does not hesitate to cite from the literature in support of his views many observations based upon such evidence. I would repeat again that the method of using thick sections is in my experience preferable to the smear method, and that those counts probably have the most accuracy which deal with small numbers of chromosomes for the difficulty in counting increases in geometrical ratio with the increase in the number of the chromosomes.

DELLA VALLE then enumerates and criticizes what he calls „subsidiary hypotheses for making the aberrant cases conform with the theory of the individuality of the chromosomes". By these he means the explanations of those who maintain there is a normal number, and who try to account for variability on other grounds than „chromosomal lability". Thus when a variation in number is found higher than the normal, some students, as I in my present account of *Euschistus*, have argued that it is due to the failure of conjugation of certain univalent chromosomes. DELLA VALLE criticizes this by saying that the number of chromosomes in the first maturation is taken as the basis of argument; but he is surely mistaken in this, for as the basis in generally regarded the number in the fertilized egg or the oögonia or spermatogonia before bivalent chromosomes have been produced. In other cases this has been accounted for by the precocious division of a particular chromosome. DELLA VALLE objects that if this be due to an equational division it has not been demonstrated, and that such an explanation would be admissible only in case every chromo-

some could be recognized in every mitosis; but we may reply that an equational division of certain univalent chromosomes is thoroughly demonstrated in the case of certain diplosomes (idiochromosomes) of *Hemiptera*, and that it is not necessary to recognize every one of the chromosomes, for if the observer can recognize any one of them with certainty, and determine its continuity from generation to generation, by the argument of analogy the others may be concluded to behave in the same way: the crucial cases are not those, such as *Salamandra*, where peculiarities of the several chromosomes cannot be distinguished, but those numerous other cases, particularly in insects, where constant size and form differences of the chromosomes can be positively recognized. It is not strange that the objectors to the theory of chromosomal continuity have each of them failed to make first hand studies of particularly decisive cases in insect spermatogenesis.

Or the chromosomal number may be one less than the normal which has sometimes been explained by incomplete segmentation of the spirem thread. Della Valle objects to this the conclusion of Grégoire, that there is no continuous spirem thread; we may answer that this is the case only after the conjugation of the chromosomes, while oögonia and spermatogonia seem to possess continuous spirem threads. Again a number less than the normal has been explained by the disappearance of a particular member. Della Valle states this argument would be a tautology, if one could recognize all the chromosomes; but we may reply that it is not necessary to recognize all of them, it is sufficient to positively ascertain the disappearance of a particular recognizable one. Or chromosomal number less than the normal has been explained on the ground of chromosome complexes. Della Valle objects that this begs the whole question; but he seems to have wholly misunderstood the rather numerous cases of chromosome complexes, for in these cases we find close juxtapositions of chromosomes but no fusion of their substance, the single components of each such complex may always be distinguished.

All through his argument Della Valle, like the other opponents to the theory of the individuality of the chromosomes, exhibits a pronounced scepticism towards the cases of the modified chromosomes, allosomes, which furnish one of the strongest arguments to the theory. They are sufficiently answered when we recall that not one of these critics has personally examined a case of a cell containing allosomes. Della Valle practically disregards these modified chromosomes.

His objection that the chromosomes cannot be persisting individuals because they are chemical bodies undergoing metabolism, would be

without weight if the chromosomes be enzyme masses as I have argued in the present paper. Then the cases of *Ascaris*, *Helix* and *Strongylocentrotus* where the number of chromosomes is either n or 2n are curious, but they do not speak for a condition of fluctuating variation, and may be more readily explained as an additional division of all the elements.

On the whole, accordingly, DELLA VALLES view of the lability of the chromatin cannot be said to be substantiated by him, for his new evidence is open to criticism on account of his material being unfavorable; his thesis that constancy in number of chromosomes is essential for the theory of the individuality of the chromosomes is not correct; many of the cases he adduces from the literature are not admissible because they are more readily explained in other ways; and he evades much of the evidence that speaks most strongly for the idea of the continuity of the chromosomes. And it is fair to say, that if it be often difficult to establish constancy in chromosomal behavior, it becomes much more difficult to prove fluctuation. All the arguments against the theory of the continuity are destructive, not one of them a constructive explanation of the phenomena.

Yet at the same time DELLA VALLE has done a good service in calling attention to a number of striking cases that still need explanation. One of these is the chromatin diminution of *Ascaris;* in each of five successive mitoses the number 4 of the chromosomes changes suddenly to about 60 or more in the somatic cells. Another is the numerical variation of the chromosomes in the amniotic cells discribed by v. WINIWARTER; and another is the chromosomal variation in the different nuclei of the endosperm sac of plants. DELLA VALLES own observations on *Salamandra* deal with rather late tissue cells, not with germ cells, and he has noted that the chromosomal variation of number appears to be more ample in body cells than in germ cells. These cases deal all with somatic cells, they do not in any way prove that the chromosomes of the germinal cycle are not persisting individualities. But they might indicate that during the body differentiation the chromosomes may become instable complexes and perhaps even cease to be continuous entities. This need not seem so surprising, for the body cells differ from the germ cells in gradually losing the power of division which might be due to some change in the chromosomes. There are certainly a few positive cases where the number of chromosomes of the body cells undergoes a marked change, generally an increase. Thus DELLA VALLE may be right in part, a lability of the chromosomes may be a regular phenomenon in tissue cells. Relatively little attention has been devoted to the chromosomes of body cells, no general conclusion can yet be made about them, but there is some evidence that they may

come to behave differently from those of the germ cells and even perhaps come to lose their individuality. Change in chromosomal number and behavior might be a regular concomitant of somatic differentiation, quite exclusive of any process of chromatin diminution. This is only a tentative hypothesis, but it may open up a new path in the investigation of the chromosomes. Whatever conclusions be reached for the tissue cells, however, need not in any way invaliditate the theory of the continuity of the chromosomes as applied to the germ cells.

Explanation of Plates IX & X.

All the figures are of the paternal germ cells of *Euschistus sp.*, from camera lucida drawings, and are all made to the same scale with the exception of fig. 37 which is drawn to about half the scale of the others.

The following abbreviatioms have been employed:

a, acrosome:
d, smaller diplosome;
e, larger diplosome;
fn, nucleus of follicle cell of testis;
i, chondriosome;
p, plasmosome;
s, separated components (*s*-chromosomes) of a normally bivalent chromosome;
t, trâchea;
x, supernumerary chromosome;
y, yolk globules.

Plate IX.

All the figures from cells of one testis (No. 282).

Figs. 1—7. cells of follicle 1:

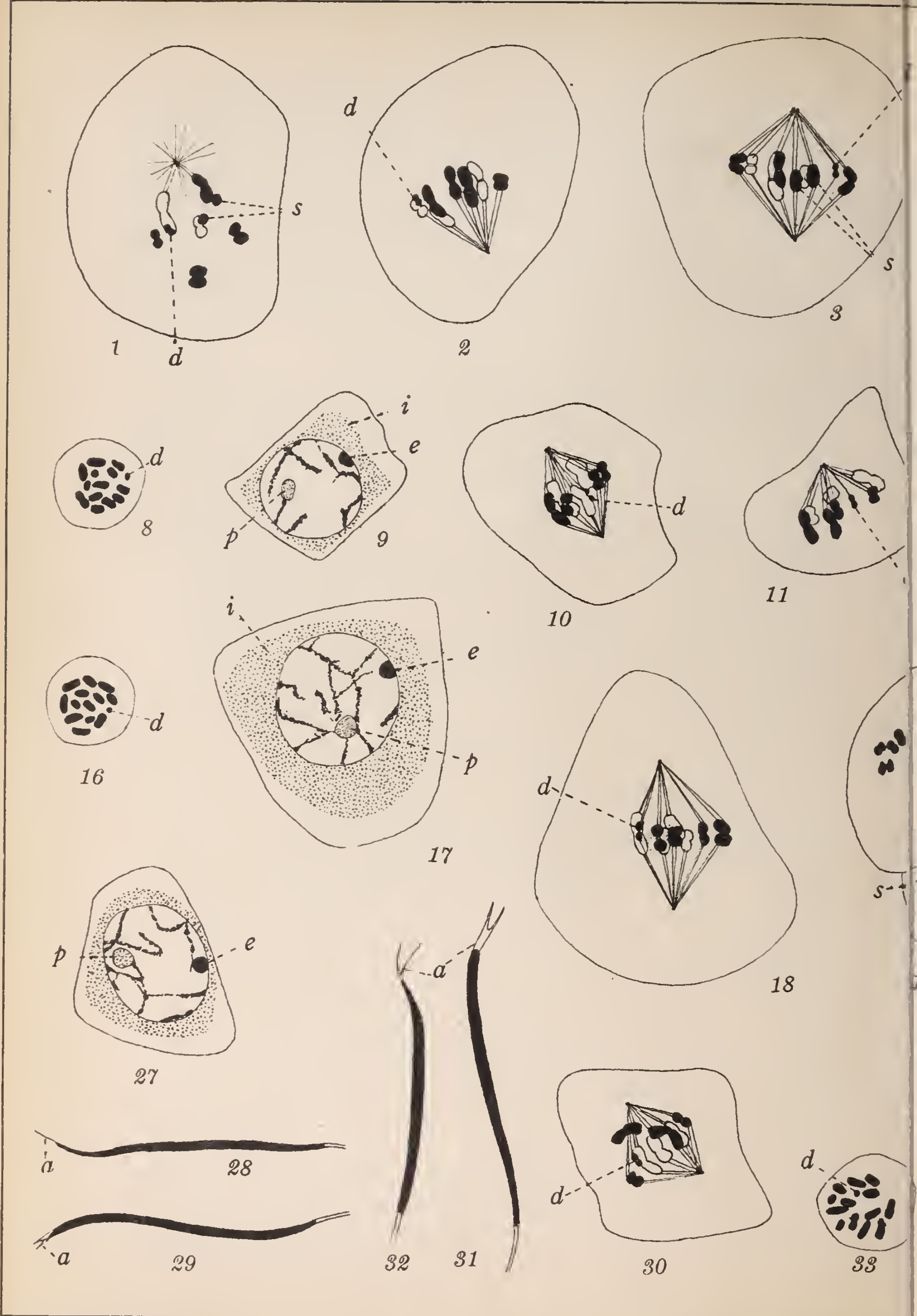
Fig. 1. Oblique view of a spindle of the first maturation.
Figs. 2, 3. Lateral views of first maturation spindles.
Fig. 4. Polar view of second maturation spindle.
Fig. 5. Lateral view of second maturation spindle.
Fig. 6. Early spermatid.
Fig. 7. Spermatozoon.

Figs. 8—15. Cells of follicle 2:

Fig. 8. Polar view of spermatogonial monaster.
Fig. 9. First spermatocyte, end of growth period.
Figs. 10, 11. Lateral views of first maturation spindles.
Fig. 12. Lateral view of second maturation spindle.
Fig. 13. Early spermatid.
Figs. 14, 15. Spermatozoa.

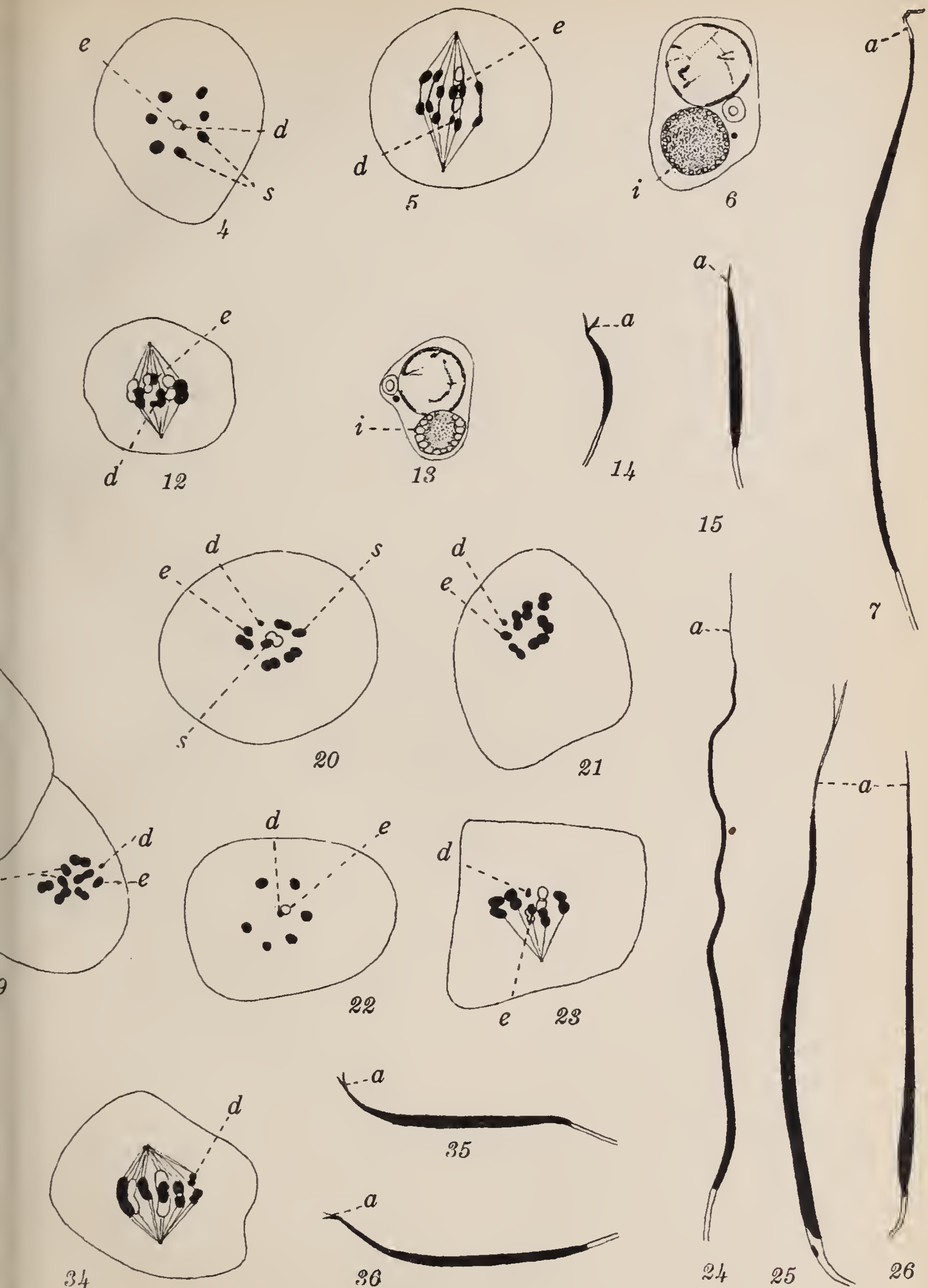
Figs. 16—26. Cells of follicle 3:

Fig. 16. Polar view of spermatogonial monaster.
Fig. 17. First spermatocyte, end of growth period.

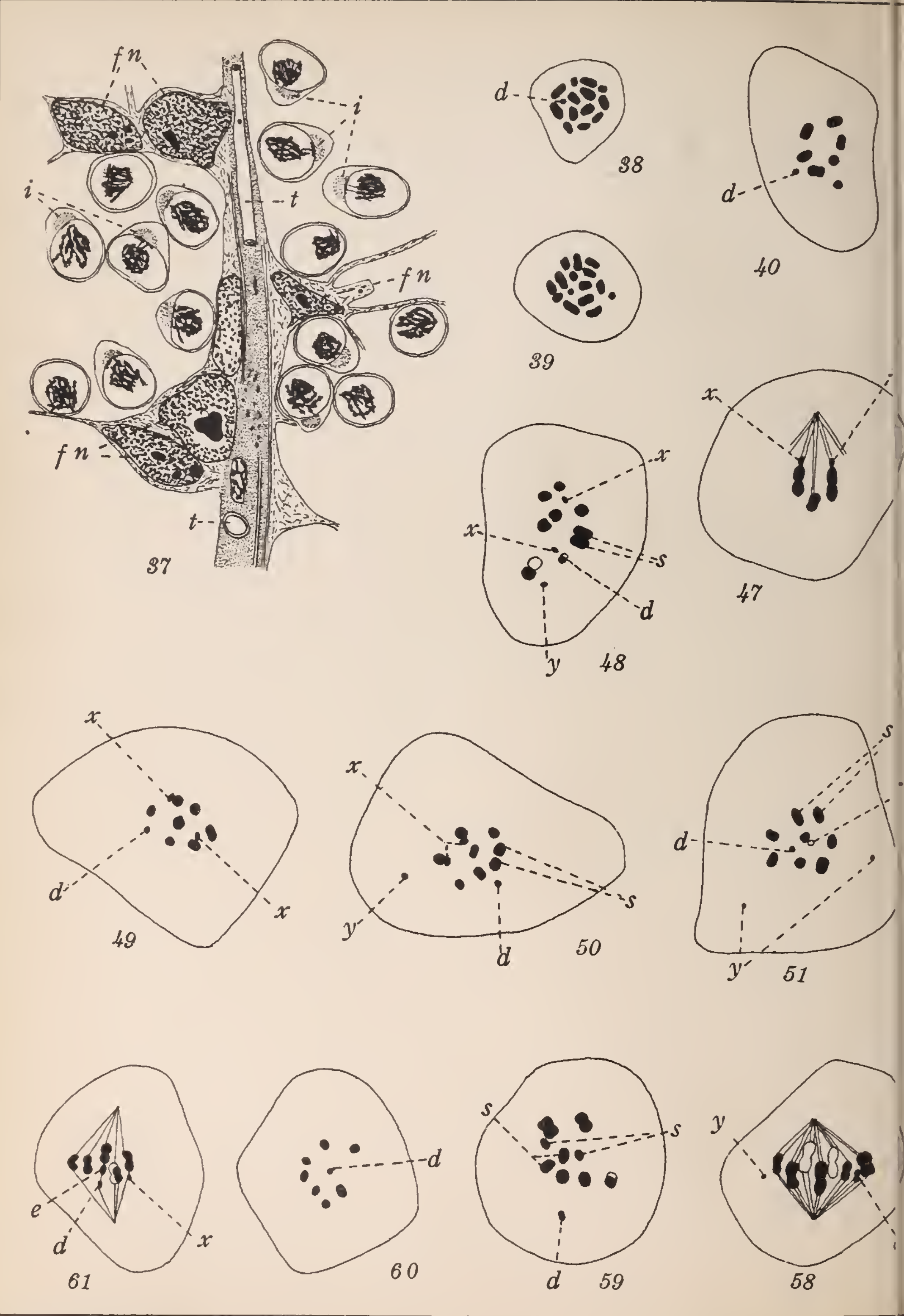


Montgomery del.

Verlag v. Wilhelm En



elmann in Leipzig.



Montgomery del.

Verlag v. Wilhelm

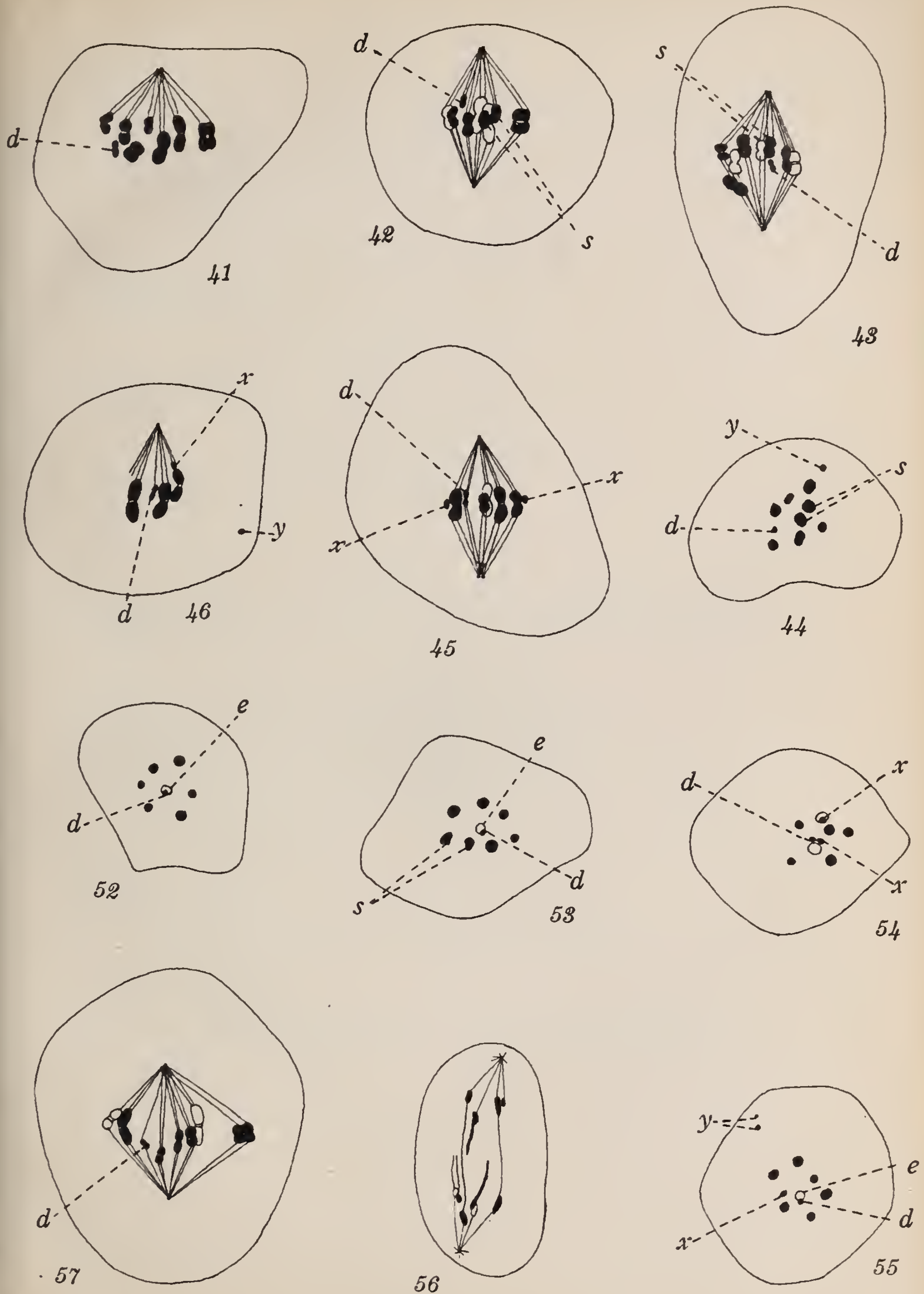

d
41
d
s
42
s
d
43
x
y
d
46
d
x
x
45
y
s
d
44
e
d
52
e
s
d
53
d
x
x
54
d
57
56
y
e
d
x
55

Fig. 18. Lateral view of first maturation spindle.

Fig. 19. Lateral view of anaphase of first maturation.

Figs. 20, 21. Polar views of second spermatocytes before the chromosomes have become arranged in the equator of the spindle.

Fig. 22. Polar view of second maturation spindle.

Fig. 23. Lateral view of second maturation spindle.

Figs. 24—26. Spermatozoa.

Figs. 27—29. Cells of follicle 4:

Fig. 27. First spermatocyte, end of growth period.

Figs. 28, 29. Spermatozoa.

Figs. 30—32. Cells of follicle 5:

Fig. 30. Lateral view of first maturation spindle.

Figs. 31, 32. Spermatozoa.

Figs. 33—36. Cells of follicle 6:

Fig. 33. Polar view of spermatogonial monaster.

Fig. 34. Lateral view of first maturation spindle.

Figs. 35, 36. Spermatozoa.

Plate X.

Fig. 37. Portion of a longitudinal section through a part of the first follicle (on the left) and a part of the second follicle (on the right) of the testis, with a part of the septum dividing the two.

Figs. 38—56. Cells of testis No. 120:

Figs. 38, 39. Polar views of spermatogonial monasters, follicle 1.

Fig. 40. Polar view of first maturation spindle, follicle 2.

Figs. 41—43. Lateral views of first maturation spindles, follicles 1 and 3.

Fig. 44. Polar view of first maturation spindle, follicle 2.

Figs. 45—47. Lateral views of first maturation spindles, in no one of them are all the chromosomes shown, follicle 3.

Figs. 48—51. Polar views of first maturation spindles, fig. 48 from follicle 2, the others from follicle 3.

Figs. 52—55. Polar views of second maturation spindles, follicle 1.

Fig. 56. Anaphase of second maturation, lateral view, follicle 1.

Figs. 57, 58. Lateral views of first maturation spindles of testis No. 267, follicles 1 and 2 respectively.

Fig. 59. Polar view of first maturation spindle, testis No. 103, follicle 4.

Fig. 60. Polar view of second maturation spindle, testis No. 286, follicle 1.

Fig. 61. Lateral view of second maturation spindle, testis No. 103, follicle 1.

Degenerationserscheinungen an Muskelzellen der Annulaten.

Von

Prof. Dr. **Al. Mrázek**
in Prag.

Mit 1 Textfigur.

O. SCHRÖDER widmet in einer unlängst erschienenen Arbeit[1]) ein besonderes Kapitel eigenartigen »kernspindelförmigen Gebilden«, die von ihm in regenerierenden Bindegewebszellen bei *Chaetogaster* gefunden worden sind. Über die wahre Natur der erwähnten Gebilde ist er im unklaren geblieben. Ich glaube, daß ich in der Lage bin, zur Klärung dieser Frage etwas beizutragen, denn es erinnern mich die von SCHRÖDER gegebenen Bilder an eine mir längst wohlbekannte Erscheinung.

Untersucht man eine größere Individuenzahl irgend eines beliebigen Annulaten, z. B. eines Tubificiden, besonders nachdem die Tiere schon eine Zeitlang zu Hause in ungünstigen Verhältnissen gehalten wurden, so begegnet man sicher Individuen, in deren Leibeshöhle eigentümliche Elemente in größerer oder kleinerer Anzahl flottieren. Es sind dies verschieden gestaltete stark lichtbrechende hyaline Gebilde, die zuerst den Eindruck von Lymphocyten machen. Obgleich diese Elemente recht variabel sind, was ihre Größe anbelangt, und auch in ganz verschiedenen Gestalten vorkommen können (vgl. die nebenstehende Figur), so zeigen sie nichtsdestoweniger überall dieselben Organisationsverhältnisse. Das einzige, was sich an ihnen mit Sicherheit nachweisen läßt, ist eine fibrilläre Struktur, doch ist dieselbe oft recht undeutlich und wie im Schwinden begriffen. Sehr oft ist die Ge-

[1]) SCHRÖDER, *Thelohania chaetogastris*, eine neue in *Chaetogaster diaphanus* Gruith. schmarotzende Microsporidienart. Arch. f. Prot. 14. Bd. 1909.

stalt spindelförmig. Das hat natürlich seine Geltung nur von dem Umriß, sonst sind die Gebilde flach und stellen dünne Plättchen dar, die oft spiralig gekrümmt sein können. Einzelne Exemplare erwecken den Anschein, als ob sie in Zweiteilung begriffen wären. Doch vermehren sich diese Elemente sicher nicht auf einem ähnlichen Weg. Tatsächlich läßt sich aber beob-



achten, daß die Zahl solcher Gebilde in einem Wurm innerhalb 24 Stunden recht beträchtlich zunehmen kann.

Die erwähnten Gebilde wurden selbstverständlich schon von vielen Forschern in verschiedenen Annulaten (Polychaeten, Oligochaeten, Sipunculiden) angetroffen und verschieden gedeutet. Ich selbst kenne diese Gebilde, wie gesagt, schon seit langem und wußte auch lange nicht, wohin ich sie einreihen sollte. Eine Zellennatur derselben ließ sich nicht

nachweisen. Auf Grund zahlreicher Beobachtungen und Vergleiche ihrer Struktur und ihres Verhaltens gegenüber den Farbstoffen kam ich jedoch endlich zu dem Ergebnis, daß sie weiter nichts andres sind als losgelöste, aus dem Zellverbande in die Leibeshöhle herausgetretene Teile der Längsmuskeln des Hautmuskelschlauches.

Diese Muskellamellen erlitten begreiflicherweise dabei eine teilweise Veränderung ihrer chemischen oder physikalischen Konstitution. Ihre Substanz erscheint wie aufgequollen und die fibrilläre Struktur daher undeutlich. Man kann oft einen beinahe absoluten Zerfall der Längsmuskulatur beobachten. Die Folge davon ist, daß dann die Leibeshöhle von den oben erwähnten Gebilden angefüllt ist. Die meisten flottieren frei im Coelom, aber man findet auch Fälle, wo offenbar dieselben Gebilde auch als Zelleinschlüsse, innerhalb von Lymphocyten liegend, vorkommen. Es ist möglich, daß dies erst sekundär geschah, daß die schon losgelösten Lamellen von den Lymphocyten gefressen wurden, aber es ist noch eine andre Auslegung möglich. Die Lymphocyten nehmen auch aktiv an dem direkten Auflockern der Muskelzellen Teil und vervollkommnen so das Werk der Zerstörung. Um zu einem sichern Urteil in dieser Hinsicht gelangen zu können, wäre eine eingehende Kenntnis des Verhaltens der Lymphocyten im normalen wie pathologischen Zustande notwendig. Wie dem auch sei, sicher ist, daß die einmal aus dem Zellverbande losgelösten Zellbestandteile, Muskellamellen, tagelang als gewissermaßen selbständige Organismen fortleben können.

Ich vermute, daß es sich in dem Schröderschen Falle um eine identische Erscheinung, wie ich sie im obigen beschrieben habe, um in eine fremde Zelle aufgenommene Teile der Muskelzellen handelt.

Pseudo-Reduction in the Oögenesis of Allolobophora foetida.

By

Katharine Foot and E. C. Strobell.

With 1 figure in the text and plates XI and XII.

GRÉGOIRE in a recent paper referring to certain points in POPOFF's observations on the oögenesis of *Paludina* says: »Étudiant l' ovogénèse de la *Paludina*, POPOFF décrit, à la fin de l'étape synaptique, avant l'accroissement, des chromosomes doubles, assez longs, qu'il considère comme des tétrades; d'autre part, après le grand accroissement de l'ovocyte, à la veille de la métaphase, il décrit des chromosomes doubles plus trapus, qu'il considère encore comme des tétrades. Or, d'après l'auteur, il n'y a, entre ces deux sortes de chromosomes, aucun lien. Les tétrades des noyaux diplotènes se désagrègent complètement, elles rentrent dans une disposition analogue à celle qui a précédé les noyaux leptotènes; les tétrades de la métaphase hétérotypique sont donc de nouvelles formations, résultat d'une nouvelle prophase.

Une pareille interprétation de l'étape synaptique, ou si l'on veut, des noyaux diplotènes nous semble, pour toute tétradogenèse (sporogenèse, spermatogenèse, ovogenèse), absolument contredite par les faits et cela quoi qu'il en soit de la théorie générale du quotient nucléoplasmique que nous ne voulons en aucune façon discuter ici. Il est à nos yeux évident que les chromosomes strepsitènes de la fin de l'étape synaptique sont les futurs chromosomes de la métaphase hétérotypique; que, par conséquent, l'étape synaptique n'a pas et ne peut pas avoir le sens d'une cinèse avortée, mais qu'elle constitue la préparation des chromosomes hétérotypiques; elle représente la première étape de l'unique et véritable prophase de la cinèse hétérotypique« (page 90).

The facts demonstrated by Popoff in *Paludina* are in such close accord with the phenomena observed in the oögenesis of *Allolobophora foetida* that a comparison of the two forms may be of some value. They agree in the essential points that pseudo-reduction occurs twice — the first group of reduced (bivalent) chromosomes appearing before the growth period — shortly after the last oögonial division — and the second group of reduced (bivalent) chromosomes appearing at the end of the growth period — these two groups being separated by an interval in which the chromosomes completely disintegrate and lose their individuality.

Grégoire in questioning this interpretation claims that it would constitute a difference between the heterotype divisions in oögenesis and spermatogenesis which he believes does not exist. He says:

»C'est que, au point de vue des aspects tout particuliers de la période synaptique et des chromosomes hétérotypiques définitifs, c'est-à-dire au point de vue des phénomènes tout spéciaux qui caractérisent l'evolution nucléaire des tétradocytes ou gonotokontes, il existe une ressemblance parfaite, même une identité absolue entre l'ovogenèse et les autres tétradogenèses . . .

La seule différence qui existe, au point de vue des chromosomes, entre l'ovogenèse et la spermatogenèse, c'est que, dans celle-ci, l'évolution des chromosomes en formation est continue, tandis que dans l'ovogenèse elle est, pendant un temps plus ou moins long, interrompue par le travail d'accroissement du protoplasme« (page 93).

A comparison with Popoff's observations on *Paludina* is of special interest because the important stages Popoff failed to find in *Paludina*, i. e. the evolution of the second set of tetrads, is clearly demonstrated in *Allolobophora*. Grégoire emphasizes the necessity of demonstrating these stages because they are essential to support Popoff's claim that the tetrads of the heterotype prophase are new formations and not the persisting tetrads of the earlier stage as claimed by Grégoire. He writes:

»Popoff n'a pas pu trouver de stades de formation de ses tétrades définitives. Il n'observe celles-ci que toutes constituées. On peut admettre, dira-t-on, que les phénomènes sont très rapides. Néanmoins, ils ne peuvent pas l'etre au point que l'on n'observe jamais, après l'accroissement, les stades de l'élaboration des chromosomes aux dépens d'un réseau, stades qui devraient nécessairement prendre un certain temps. Cette rapidité dans l'apparition, après l'accroissement, de chromosomes déjà doubles ne s'explique qu'en admettant que ceux-ci n'ont plus eu à se former, et qu'ils avaient été édifiés déjà dès avant l'accroissement, lors de l'étape synaptique« (page 93).

Grégoire explains as follows the conditions which he regards as essential to support Popoffs claim that a second pseudo-reduction occurs.

»Dautre part, si réellement l'étape synaptique représentait bien une cinèse avortée, il faudrait, après l'accroissement, trouver les stades successifs de la préparation des chromosomes doubles de la cinèse hétérotypique« (page 92).

These conditions are fulfilled in the egg of *Allolobophora*. At the end of the growth period successive steps in the evolution of the second group of reduced (bivalent) chromosomes can be followed and clearly demonstrated and *these occur at the end of the growth period*.

The stages which Grégoire regards as typical of the formation of the heterotype chromosomes of the first division — the leptotène, the pachytène and the diplotène stages — can be easily demonstrated for this *second reduction* which in *Allolobophora* occurs long after the period in which the first group of reduced chromosomes have disintegrated and disappeared.

We believe this demonstrates that the chromosomes of the second diplotène group are new formations as claimed by Popoff in *Paludina*. He describes the disintegration and disappearance of the first group of tetrads as follows:

»Die gleich nach der ersten Andeutung der Tetradenausbildung beginnenden rückgängigen Prozesse führen im Stadium des dictyenen Kernes zu einer vollständigen Auflösung der Chromatinschleifen und zu der Zusammenballung des Chromatins in einzelne Chromatinklümpchen, welche sich bald darauf in einen oder zwei große Chromatinhaufen ansammeln. Angesichts dieser tiefgreifenden Umwandlungen des Chromatins bleibt von der ersten Kernstruktur keine sichtbare Spur zurück; es kann dann von einer Erhaltung der Individualität der früheren Chromosomen keine Rede sein. Alles wird so umgeändert, so durcheinander geschoben, daß von einer Kontinuität der ursprünglichen Chromosomen nichts zu sehen ist. Genau solche tiefgreifende Umänderungen sind auch durch v. Winiwarter (00) bei den Säugetieren, durch Carnoy und Lebrun (97—03) bei den Amphibien, von Fick (93) bei Axolotl, Lubosch (02) bei Triton usw. usw. beschrieben worden. Man kann nicht von der Kontinuität eines Gebildes sprechen, das während einer langen Periode vollständig verschwindet« (page 52).

Descriptive and Comparative.

Photo 1 shows an oögonial prophase in which 22 chromosomes can be clearly counted and Photo 2 is a young oöcyte in which 11 chromosomes

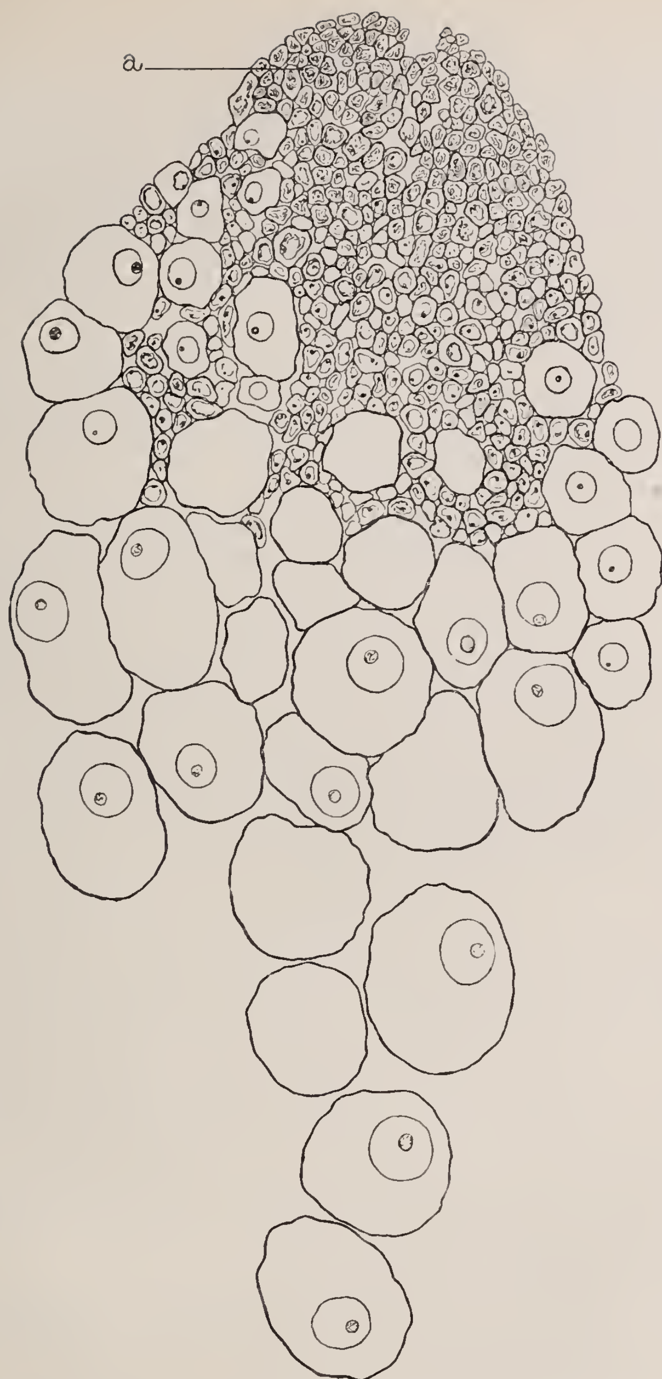
can be counted with equal clearness. We have placed these Photos side by side in order to facilitate a comparison of the two groups of chromosomes. It would seem that such a comparison ought to throw some light on the method of pseudo-reduction, but it is evident this is not the case. The bivalent chromosomes of Photo 2 indicate merely that they have passed through some profound changes between the stages shown in Photos 1 & 2 — changes which have presumably occurred after the telophase of the last oögonial division. We have, however, been unable to find any satisfactory evidence of the occurrence of these intervening stages. The strongest evidence we have that the bouquet stage is preceded by a rest stage, is the fact that a nucleolus — the structure typically associated with the rest stage is frequently found in the bouquet nucleus. It is an interesting fact that this nucleolus sometimes appears elongated and closely resembles the chromosome nucleolus figured in the spermatogenesis of so many forms.

Longitudinal sections of a whole ovary (text-fig.) show that the pseudo-reduced chromosomes shown in Photos 2 and 3 are found at the extreme proximal end of the ovary on or near the periphery and in such close relation to the oögonial metaphases that the indications are they arise without the intervention of a typical resting stage.

Stevens (02) figures such a condition in the oögenesis and spermatogenesis of *Sagitta*. She figures one type of a spermatogonial division in which synapsis (peudo-reduction) appears at the telophase (fig. 19B). She says: "these figures lead me to think that the so called synapsis stage occurs in *Sagitta* at the close of the final spermatogonial division, the chromosomes uniting in pairs at the poles of the spindle" (p. 234). Of the bouquet stage in oögenesis she says: "the regular arrangement of loops in such oöcytes as are shown in figures 5 and 6 indicate the possibility that they may have begun their development after the last oögonial division without an intervening resting stage and that the reduction in number to 9 chromosomes may have recently taken place"[1]).

There are many cases on record in which pseudo-reduction (synapsis of some authors) occurs at the telophase of the last spermatogonial division without the intervention of a typical rest stage, but in the majority of cases typical stages leading up to the pseudo-reduced chromosomes have been demonstrated. For example, McClung (02) states "it has already

[1]) The behavior of the chromosomes of the two forms, *Allolobophora* and *Sagitta* does not correspond so closely in the later stages, for *Stevens* finds the bivalent chromosomes of the bouquet stage persisting through the entire growth period.



A longitudinal section of an ovary of *Allolobophora foetida* drawn from several photographs. In the larger oöcytes all details are omitted except the egg membrane, the membrane of the germinal vesicle and the large nucleus. a. Group of 4 bouquet stages.

been announced that nothing like a rest stage intervenes between spermatogonia and spermatocytes of the *Orthoptera* and the work of most investigators would tend to indicate that it is the exception rather than the rule" (p. 225). He states however that he finds the spermatogonial chromosomes disintegrate and he figures typical stages in the evolution of the heterotype prophase chromosomes. His figure 3 shows the thin thread (leptotène) stage. In figure 4 the threads are more pronounced and in figure 5 a thick spireme (pachytène) is shown.

In oögenesis a post-oögonial rest stage is frequently figured followed by typical stages leading up to the bouquet stage, for example Maréchal (06) in his extensive paper »Sur l'Ovogenèse des Sélaciens et de quelques autres Chordates« finds a rest stage between the last oögonial division and the leptotène stage. He says:

»La succession des premiers stades de ovogenèse peut se marquer comme suit: repos postovogonial; reconstitution lente des filaments du noyau et commencement de rétraction unilatérale; parallélismes ou entre-croisements fréquents de ces filaments; synapsis: rétraction discrète, mais surtout orientation des filaments en bouquet: accolement total ou partiel de ces filaments deux par deux, à un moment un peu variable; spirème discontinu de filaments épais (stade initial de Rückert) et bivalents; séparation plus ou moins accentuée des moitiés constitutives de chaque système chromosomique: noyaux diplotènes; début du grand accroissement« (p. 185).

Lerat (05) also finds a postoögonial rest stage in *Cyclops strenuus*. He says:

»Quoi qu'il en soit, il est absolument certain chez le *Cyclops* que la dernière cinèse ovogoniale est suivie d'un repos et que les filaments dédoublés en long ne représentent pas un diaster ovogonial« (p. 169).

Winiwarter (00) demonstrated in the rabbit a series of stages leading up to the pachytène stage. These he designated as "noyaux protobroques, noyaux deutobroques. noyaux leptotènes, noyaux synaptènes, noyaux pachytènes". As stated above we have been unable to find evidence of these stages leading up to the pachytène stage in *Allolobophora* (Photos 2 to 5) and we have, therefore. in this form only negative evidence against any theory which claims to determine the method by which pseudo-reduction is accomplished.

Many authors who find that pseudo-reduction is established before the growth period agree on the important point that the chromosomes retain their individuality throughout the growth period and it is here that the results of Popoff and others are at variance with

them — and these conclusions we are able to support in the oögenesis of *Allolobophora*.

Sections of the ovary of *Allolobophora* show clearly successive stages of the breaking down of the bouquet (pachytène) stage into the typical resting oöcyte nucleus. The bivalent chromosomes of the pachytène stage become longer, thinner and more twisted until finally they disappear and we have the typical resting oöcyte nucleus. Roughly speaking we may say, the further the cell is removed from the proximal end of the ovary, the later the stage of metamorphosis of the chromosomes. The metamorphosis of the bouquet stage into the resting oöcyte is demonstrated in several of the photographs of plate XI and is is clearly seen to be the reversed process of that described as typical of the evolution of the heterotype prophase chromosomes, whether these are found to appear before the growth period, as in the forms above quoted, or after the growth period as in *Allolobophora* (Photos 13 to 19).

Photo 4 shows a typical bouquet group of chromosomes with several of the free ends torn away from the base. In Photo 5 the component chromosomes of the bouquet are still further separated, though two of the bivalents on the right are attached end to end making it appear as if only ten chromosomes are present.

Photos 6, 7 and 9 demonstrate the leptotène stage which in this form is a connecting link between the bouquet bivalents and the resting oöcytes. We believe that Photo 9 shows that the thin (leptotène) threads are due to attenuation of the thick (pachytène) bivalents of the bouquet stage and that therefore in those cases in which such threads happen to run parallel to each other they represent two bivalents and not the approximation of two univalent chromosomes. Later these long threads become more twisted, break apart and disintegrate before the net-work of the resting oöcyte appears. One of these transitional stages is shown in Photo 6 and it seems reasonable to interpret the thin threads of this preparation in the light of those shown in Photo 9, though there are certain features in this preparation that might be interpreted as a parallel conjugation of univalents. For example, at the extreme lower end of the mass of chromatin threads is a chromosome showing what appears to be the point of attachment of two univalents. This might be interpreted as due to the longitudinal splitting of the threads, the appearance at the point of attachment indicating that the split is not quite completed. The appearance at this point can also be interpreted as merely a break in the thin thread or a transverse separation of the univalents, and a subsequent contraction as the preparation dries. This last interpretation is in keeping with the view that the bivalents of

the bouquet stage are two univalents attached end to end, but we have not been able to support such an interpretation by showing any transverse constriction in the chromosomes of the bouquet stage, though such a constriction has been demonstrated for other forms[1]).

Goldschmidt (08) describes this condition in the oögenesis of *Dicrocoelium lanceatum*. He says:

»Indem sich die Fäden weiterhin verkürzen und verdicken, beginnen sich einzelne aus dem Verband der übrigen zu lösen und mit ihrem einen Ende frei in den Kernraum zu ragen. In Figur 7 ist dies bei vier Fäden eingetreten, während sechs noch bukettartig geordnet sind. In diesem Stadium erkennt man zum erstenmal, daß jeder längsgespaltene Faden in der Mitte durch eine achromatische Brücke unterbrochen ist, wie in Fig. 7a stärker vergrößert zu sehen ist. Genau das gleiche finden wir wieder bei Popoff abgebildet. Und diese Querunterbrechung bleibt erhalten, ja wird sogar noch viel deutlicher sichtbar, wenn die immer kompakter werdenden Fäden sich jetzt im Kernraum zerstreuen (Fig. 8). Es ist klar, daß wir diese längs- und quergeteilten Fäden jetzt mit gutem Recht als Tetraden bezeichnen dürfen, die wir schließlich (Fig. 9) im ganzen Kern zerstreut und vorwiegend gestreckt verlaufend vorfinden.

Es folgt nun nicht wie bei den meisten Objekten ein Diplotänstadium und der Übergang zum Ruhekern, sondern es fährt erst die Konzentration der Tetraden noch weiter fort. In Fig. 10 finden wir sie schon stark verkürzt, der Längsspalt ist noch deutlich, der Querspalt aber kaum noch bei einzelnen angedeutet, und in Fig. 11 sehen wir sie schließlich zu ganz kurzen Elementen zusammengeschrumpft, in denen der Längsspalt gerade noch zu sehen ist. Erst jetzt dehnen sie sich wieder aus zu langen Fäden, die auffallend körnig erscheinen und durch Brücken miteinander verbunden sind (Fig. 12). Die Körnchen deuten noch durch Anordnung in zwei Reihen den Längsspalt schwach an (Fig. 13), und schließlich bildet sich in bekannter Weise das Netz des Ruhekerns aus« (p. 236).

Arnold (09) in the oögenesis and spermatogenesis of *Planaria lactea* demonstrates the important point that the thin threads represent the reduced and not the somatic number. He says: "these conclusions are in striking agreement with those of Goldschmidt (08)".

This point is demonstrated also in a recent important paper by Buchner (09)[2]) and he contributes evidence from several *Orthoptera* in

---

[1]) Arnold (09) calls attention to a similar lack of a transverse constriction in the bouquet stage of the *Planarian* studied by him.

[2]) In this paper Buchners observations on the accessory chromosome appear to throw some light on certain conflicting facts observed by us in *Euschistus* variolarius.

support of POPOFF's results and conclusions. In referring to GRÉGOIRE's criticism of POPOFF's work he says, »Was nun GRÉGOIRES Einwände bezüglich der Eibildung betrifft, so stimme ich wenig mit ihm überein. Er macht die gleichen Punkte geltend wie bei der Spermatogenese, obwohl hier zwei ganz verschiedene Erscheinungen scharf zu trennen sind« (p. 393).

BUCHNER however, did not succeed in finding the stages demanded by GRÉGOIRE as necessary to sustain POPOFF's claim that the post growth chromosomes are new formations, and it is just at this point that *Allolobophora* gives the necessary evidence (photos 13 to 19).

Photo 7 shows a common form of the leptotène stage — the exceedingly fine threads are twisted and tangled and often the contraction of the chromatin progresses so far as to prevent its differentiation from the nucleolus — the two structures being almost fused. The term synapsis is frequently used for this stage as well as for the one in which the bivalents first appear. Typically a nucleolus is present at these stages (Photo 7). In those cases however, in which the threads are pushed apart and spread over a larger area, the nucleolus is sometimes destroyed (Photos 6 and 9).

Photo 8 is a typical young resting oöcyte showing a nucleolus and chromatin net-work. The position of these eggs in the ovary clearly indicates that they are the young oöcytes and all transitional sizes can be found between these cells and those which have reached their maximum size at the distal end of the ovary (text-fig.)

From this stage until the eggs have reached their maximum growth there is no evidence whatever of the persistence of the chromosomes and those who would claim that the chromosomes persist through these stages in *Allolobophora foetida* would, as FICK says, be "dealing with an hypothesis and not a fact" (FICK 07).

Photo 10 shows the nucleus of a much larger oöcyte with a typical chromatin reticulum — the nucleolus is present though faintly stained.

BUCHNER supports WASSILIEFF in observing that only part of the substance of the chromatin nucleolus gives rise to the accessory chromosome.

This would seem to indicate that the chromosomes in question are evolved from a nucleolar mass of chromatin, thus homologizing this structure with the cases in which it is claimed all the chromosomes are evolved from a large nucleolus, leaving a nucleolar residue after the chromosomes are formed. In *Euschistus* we find cases in which both the idio-chromosomes and a chromatin nucleolus are present at the same time. Such facts added to those cases in which the size relations of the chromatin nucleolus do not agree with those of the idio-chromosomes, raise the question as to the identity of the two structures, though these facts would not conflict with homologizing the chromatin nucleolus with the nucleolus which in some forms is said to give rise to all the chromosomes.

Photo 11 shows a germinal vesicle of a relatively large egg near the distal end of the ovary (text-fig.). The eggs at the extreme distal end are much larger and many of the germinal vesicles of these eggs are fully as large as those of the eggs found in the receptaculum ovorum.

After leaving the ovary the eggs are deposited in the receptaculum ovorum where they must remain from one to three days, as we found that these worms deposit a cocoon not oftener than every third day [Foot and Strobell (05)].

Many of our Photos of the germinal vesicles of the ovarian eggs show them to be sometimes even larger than those of Photos 12 to 18 which are from eggs found in the receptaculum ovorum. We believe therefore, we are justified in stating that the eggs of *Allolobophora* have reached their maximum size before leaving the ovary. We are further justified in stating that the evolution of the second group of reduced chromosomes does not begin until after the eggs have completed their "grand accroissement" for the leptotène, pachytène and diplotène stages occur in eggs found in the receptaculum ovorum and it is only exceptionally that the largest eggs ot the extreme distal end of the ovary have developed even to the leptotène stage. On the other hand the majority of eggs in the receptaculum ovorum have not yet developed to this stage.

Photo 12 shows the earliest stage of development of these eggs. The chromatin is evenly distributed throughout the entire germinal vesicle and there is no indication whatever of the chromatin threads characteristic of the leptotène stage. In this preparation both the larger and small nucleolus are present.

Photo 13 shows one of the earliest phases of the leptotène stage. We have many preparations showing the threads still more delicate — too delicate to admit of a satisfactory demonstration in a photograph[1]).

In Photo 13 the large nucleolus is broken by the technique and covers a larger area than is usual. The small nucleolus is probably obscured by the larger, as they are often in close contact as in Photo 15. This is seen also in Photos 118, 124 and 125 Foot and Strobell (05).

In Photo 14 the leptotène threads are somewhat thicker and some of the strands show a longitudinal split, but we interpret this as forecasting the longitudinal split so pronounced in the later stages. E. g. Photos 16, 17 and 19 [see also Foot and Strobell (05) Photos 114, 115, 117, 119, 120, 121, 123, 124 and 126].

---

[1]) Other examples of the leptotène stage in these eggs are demonstrated in Photos 111 and 113 Foot and Strobell (05).

We believe that Photos 13 and 14 represent the revers of the process shown in Photos 6, 7 and 9, and that the thin threads of Photos 13 and 14 represent attenuated bivalents and not univalents. The bivalent chromosomes of Photos 2, 3, 4 and 5 become metamorphosed into the resting nucleus and at the latest stage these bivalents can still be identified as chromosomes, they appear as exceedingly attenuated threads. We believe therefore, that when threads resembling these reappear after the long growth period, it is reasonable to interpret them as having the same value as the attenuated threads which become metamorphosed into the resting nucleus. Their further development supports this interpretation for reversing the earlier process, they contract and become shorter and thicker until we have again a group of pseudo-reduced chromosomes as in Photos 2 to 5, with the important addition that in this post growth period group the transverse constriction typical of the tetrad is clearly seen, as well as the longitudinal split which can be traced back to the leptotène stage (Photo 14) and forward to at least the anaphase of the first division.

In Photo 15 the leptotène threads of Photos 13 and 14 are represented by shorter, thicker strands and this condition is even more satisfactorily shown in Photos 113, 114 and 115 [Foot and Strobell (05)].

In Photos 16 and 17 the strands have contracted still further and many distinct bivalents are easily recognized. One of these just below the small nucleolus in photo 16 shows an interesting phase — the end in contact with the small nucleolus showing the thin thread of the leptotène stage while the other end has reached the stage of contraction showing the typical longitudinal split. In many cases the bivalent chromosomes reach the diplotène stage (Photo 18) without showing the usual longitudinal split. In Photo 18 four of the bivalents have separated at their transverse point of constriction and at least three of them form typical diplotène groups, but in the light of all the other preparations it is evident that the line of separation of these two halves has no connection with the longitudinal split of the pachytène or leptotène (Photo 14) stages, but the condition is due to their precocious transverse separation.

The transverse fission and also the longitudinal split are clearly demonstrated in Photo 19. We believe the longitudinal split of these chromosomes can be traced back step by step to the earlier stages even to the leptotène stage. For further demonstration of this see Foot and Strobell (05) plates 7, 8 and 9. The Photos of plate 9 demonstrate also that the first maturation division separates these chromosomes at their transverse point of fission.

A careful comparison of the relative sizes of the chromosomes — even at the same stage of development — frequently shows significant irregularities, but in this paper we have selected none of the preparations with a view of demonstrating this point. We would call attention however to Photos 18 and 19. The relative sizes of the chromosomes of these two preparations are by no means identical. More marked inconstancy in the relative size of the chromosomes at the same stage of development is common in *Allolobophora* and we called attention to a similar variability in the spermatogenesis of *Anasa tristis* (07).

Inconstancy in the form, size and number of the chromosomes has been frequently noted for many forms, and all such observations present a serious obstacle to the theory of the individuality of the chromosomes, though they do not conflict with the belief that the chromosomes are "an expression of the organizing function of the cell as a whole". (Farmer 07, p. 455).

Conclusion.

Grégoire's criticism of Popoff's conclusions challenges an answer to the question which of these two groups of reduced chromosomes in the oöcyte is the homologue of the heterotype prophase group of the spermatogenesis. Is it the group which is present before the "grand accroissement" Photos 2 and 3, or is it the group which appears after the „grand accroissement" Photo 19?

Grégoire concludes that the former group is the homologue of the heterotype prophase in spermatogenesis, basing this conclusion on the fact that in *Paludina* Popoff was able to trace in only the first group, the successive stages of the development characteristic of the heterotype prophase of spermatogenesis. He concludes therefore that the chromosomes of the second group have not been formed anew and have persisted as such through the entire "grand accroissement".

We have shown that this reasoning does not hold true for *Allolobophora*, for the steps characteristic of the development of the spermatocyte heterotype prophase can be clearly demontrated in the development of the chromosomes of the oöcyte heterotype prophase, which occurs after the egg has reached its maximum growth, and these are the chromosomes of the first metaphase.

Eggs found at the free end of the ovary (text-fig.) have certainly passed through the stage of "grand accroissement" and the leptotène, pachytène and diplotène stages of the second group are found in eggs which have left the ovary and are in the receptaculum ovorum. As stated

above the eggs at the free end of the ovary although they have attained their maximum size have, as a rule, not reached the leptotène stage, the chromatin is homogeneous or has a delicate network structure. The development of the eggs found in the receptaculum ovorum varies from the stage prior to the leptotène (Photo 12) to the first metaphase. We have found no exceptions to this.

We are certainly justified in interpreting these stages which occur after the growth period of the egg as the stages which lead directly to the prophase of the first maturation division and they are therefore the stages corresponding to the spermatocyte prophases rather than the early pseudo-reduced group which disintegrates and disappears[1]).

If the evidence in *Allolobophora* justifies the decision that the second group of reduced chromosomes is the homologue of the heterotype prophase of spermatogenesis then it raises the question as to the significance of the first group. Popoff believes that this first group — this pseudo-reduction followed by disintegration instead of division, — presents evidence for R. Hertwig's theory of cell division. He says:

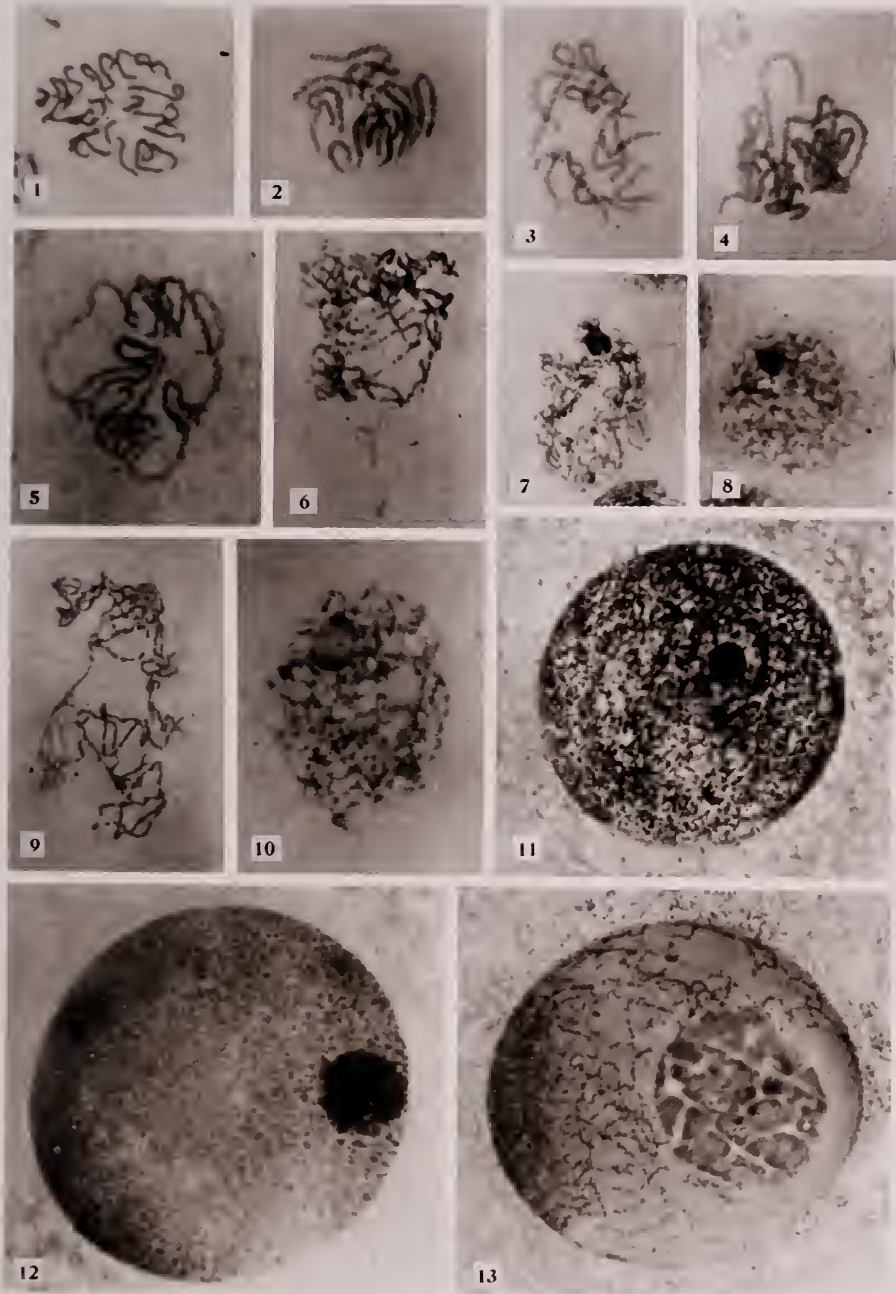
[1]) We would like to express our regret that in a recent paper on these stages in *Euschistus* (09) we overlooked the fact that Wilson had called attention to the absence of a chromatin nucleolus in the earlier stages. This omission was due to our conviction that the "great growth" period of the egg and its subsequent leptotène, pachytène and diplotène stages are the stages in the female which correspond to the spermatocyte leptotène, pachytène and diplotène stages. These stages in the egg have been conspicuously neglected by investigators of the Hemiptera Heteroptera and as far as we are aware not one word of description has been given of them. We find these stages in the female long after the period at which Wilson finds the young oöcytes he mentions. We have never found them in the ovary of "just emerged adults" of any of the Hemiptera studied by us nor even in the females examined several days after the last moult. Wilson's description would indicate that he is referring to stages similar to those in our Photos 7 and 8 of this paper, for he sees a contraction stage which finally culminates in an oöcyte with "a fine reticular structure". It is at this point that we believe the growth period of the egg begins and it is the long growth period following this stage that presumably offers the most favorable opportunity for the study of the nucleoli in the egg. In all the eggs of the three Hemipteran forms we have thus far examined the plasmosome appears as a very large achromatic body more than four times as large as the chromatin nucleolus of the male. See Foot and Strobell (09) Photos 20 to 24. In the stages studied by Wilson he describes as "probable plasmosomes" one or two deeply staining nucleolus-like bodies "much smaller" than the chromosome nucleolus of the spermatocyte. We can support Wilson's observations as to the presence of an oöcyte contraction stage in the ovary and we can add to these observations the presence of a pseudo-reduction, but both these phenomena occur before the growth period, as we understand it i. e. the period initiated by the young oöcyte, with its typical network or granular chromatic structure.

»An dieser Stelle wäre auch die Frage aufzuwerfen, was für eine Bedeutung die Rückbildungsprozesse der chromatischen Figuren, wie sie bei *Paludina* nach der ersten Ovocytenentwicklungsphase so deutlich hervortreten, hätten? Wie kommt es ferner zu einem Riesenwachstum der Eizelle unter gänzlichem Ausbleiben der Teilungen bei derselben? Wie kommt es, daß eine regelmäßige Anordnung des Chromatins, wie sie als Vorbereitung zur Teilung aufzutreten pflegt, eine Rückbildung erfährt und in so offenkundiger Weise einer gleichförmigen Verteilung des Chromatins Platz macht? Ausgehend von seiner Lehre über die Kernplasmarelation hat R. Hertwig versucht, diese Prozesse als eine rückgängig gemachte Teilung aufzufassen. Wie bekannt, besagt diese Lehre, daß der Quotient, den man erhält, wenn man die Masse der Kernsubstanz durch die Protoplasmamasse dividiert, eine gesetzmäßige Größe ist. Gelingt es, wie es Gerossimoff für Spirogyren gezeigt hat, durch experimentelle Eingriffe die Kernmasse auf das Doppelte zu vergrößern, oder wird durch physiologische Zustände eine Vergrößerung der Kernmasse herbeigeführt, so wächst auch die Zellsubstanz auf das Doppelte, beziehentlich auf eine der Kernzunahme proportionale Größe, d. h. die gesamte Zelle wird in entsprechender Weise größer.« Bei den Eizellen sind auch dieselben Vorgänge zu beobachten, d. h. ein starkes Wachstum des Kerns mit nachfolgendem Wachstum des Plasmas. Wie die Befunde an *Paludina* zeigen, tritt nach der ersten Ovocytenentwicklungsphase eine Teilungshinderung des Kerns ein, welche dadurch zum Ausdruck kommt, daß derselbe in dem Zustande der pulverisierten Chromatinverteilung, wie sie vor dem leptotenen Stadium zu beobachten ist, wiederkehrt. Die Teilung des Kerns bleibt aus; er wächst dadurch ins Übermäßige und infolgedessen tritt auch das starke Plasmawachstum auf, welches für die zweite Phase der Ovocytenentwicklung charakteristisch ist« (p. 53).

We do not presume to express an opinion as to the bearing of these facts in *Allolobophora* on R. Hertwig's theory of cell division, it is our aim merely to present the evidence we find in such form that the facts will speak for themselves.

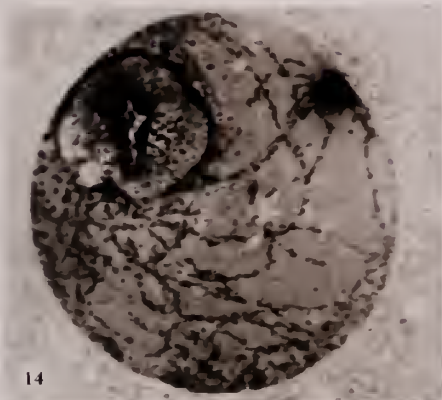
It would seem however that these facts in *Allolobophora* should be added to the list of evidence which points to a morphological difference in the maturation divisions of spermatogenesis and oögenesis, and we are in full accord with those who feel that evidence of this kind tends to lessen rather than augment the fundamental significance attributed to the morphological expression of these divisions.

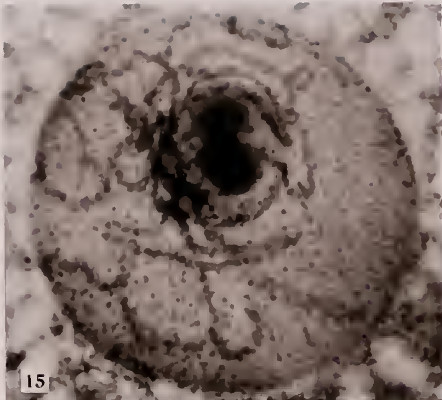
November 1909.

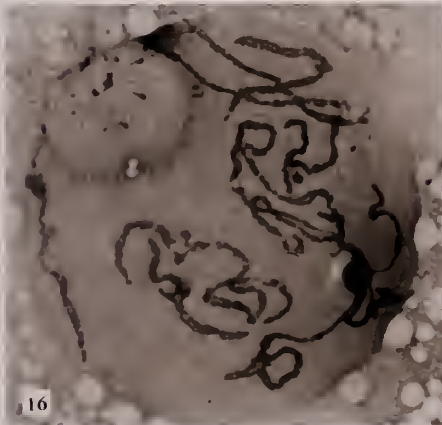


FOOT & STROBELL PHOTOS

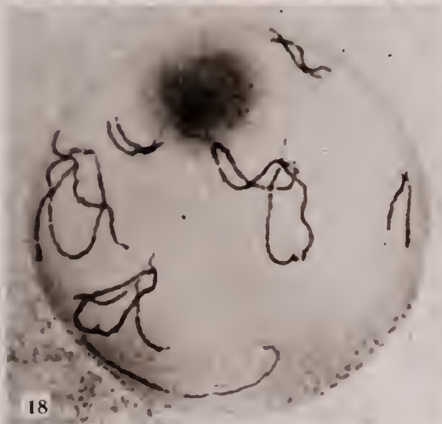
Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig


14


15


16


17


18


19

FOOT & STROBELL PHOTOS

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig

Bibliography.

Arnold, George, '09. The Prophase in the Ovogenesis and the Spermatogenesis of Planaria lactea, O. F. M. Arch. f. Zellforschung. Bd. III. Hft. 3.

Buchner, P., '09. Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellforschung. Bd. III. Hft. 3.

Farmer, J. Bretland, '07. Cronian Lecture. On the Structural constituents of the nucleus, and their Relation to the Organization of the Individual.

Fick, R., '07. Vererbungsfragen, Reduktions- und Chromosomen-Hypothesen. Ergebnisse der Anat. u. Entwicklungsgeschichte. Bd. XVI.

Foot and Strobell, '02. Further notes on the Cocoons of Allolobophora foetida. Biol. Bull. Vol. III. Nr. 5.

— '05. Prophases and Metaphase of the first Maturation Spindle of Allolobophora foetida. Amer. Journ. Anat. Vol. IV. No. 2.

— '09. The Nucleoli in the Spermatocytes and Germinal Vesicles of Euschistus Variolarius. Biol. Bull. Vol. III. No. 2.

Goldschmidt, Richard, '08. Über das Verhalten des Chromatins bei der Eireifung und Befruchtung des Dicrocoelium lanceatum Stil. et Hass. Arch. f. Zellforschung. Bd. I. Hft. 1.

Grégoire, Victor, '09. Les phénomènes de l'étape synaptique représentent-ils une caryocinèse avortée. La Cellule? t. XXX. No. 1.

Lerat, Paul, '05. Les phénomènes de Maturation dans l'ovogenèse et la spermatogenèse du Cyclops Strenuus. La Cellule. t. XXII.

Mc Clung, C. E., '02. The Spermatocyte Divisions of the Locustidae. Kan. Uni. Sc. Bull. Sept.

Maréchal, J., '06. Sur L'Ovogenèse des Sélaciens et de quelques autres Chordates. La Cellule. t. XXIV.

Popoff, M., '07. Eibildung bei Paludina Vivipara und Chromidien bei Paludina und Helix. Arch. f. Mikr. Anat. und Entwicklungsgeschichte. Bd. LX.

Winiwarter, Hans von. '00. Recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des Mammifères (Lapin et Homme). Arch. de Biol. t. 17.

Explanation of Plates.

All the photographs were taken at a magnification of one thousand diameters from our smear preparations stained with a saturate solution of Bismarck brown.

In no case have the negatives or prints been retouched in any way. We wish to emphasize this in the case of photo 19 where the form of the chromosomes appears almost diagrammatic.

Plate XI.

Photo 1. An oögonial prophase group showing 22 chromosomes.

Photo 2. A group of pseudo-reduced chromosomes — "bouquet stage". Eleven chromosomes can be clearly counted. These stages are found at the proximal end of the ovary — see text-figure.

Photo 3. The same stage as photo 2. The bouquet form of the group has been disturbed probably by the technique. Eleven bivalents can be clearly counted.

Photo 4. A bouquet stage in which a few of the chromosomes have separated from the stem of the bouquet.

Photo 5. A bouquet stage with all the chromosomes spread apart from the stem. There appear to be only 10 chromosomes in this group, but the long chromosome on the right periphery must represent 2 bivalents attached end to end.

Photo 6. A later stage than photo 5. The thin leptotène threads shown in this preparation, and in photos 7 and 9 are found in the stages that occur between the bouquet stage, shown in photo 5, and the resting oöcytes of photos 8 and 10. These threads evidently represent the attenuation of the earlier pachytène bivalents.

Photo 7. The contraction phase of the leptotène stage. A nucleolus is typically present at this stage and also frequently found in the bouquet stage.

Photo 8. The nucleus of a young resting oöcyte. The transitional sizes can be easily followed between the oöcytes at this stage and those that have reached their maximum growth at the free end of the ovary. See text-figure.

Photo 9. About the same stage as photos 6 and 7 — but in this preparation the thin leptotène threads are spread wide apart.

Photo 10. The nucleus of a growing oöcyte showing the chromatin reticulum and a large nucleolus.

Photo 11. Germinal vesicle from a much larger oöcyte near the distal end of the ovary. This germinal vesicle has not yet reached its maximum size. Many of the germinal vesicles in the eggs at the free end of the ovary are often fully as large as the one shown in photo 12, which is from an egg found in the receptaculum ovorum.

Photo 12. A germinal vesicle of an egg from the receptaculum ovorum. At this stage both the large and small nucleolus are present and the chromatin is more or less evenly distributed throughout the nucleus. The first step in the evolution of the chromosomes is the appearance of an exceedingly delicate chromatic thread, much more delicate than the thread shown in photo 13.

Photo 13. A germinal vesicle of an egg from the receptaculum ovorum, showing the chromatin at the leptotène stage. The long thin twisted threads represent the reverse process shown in photo 7, the stage at which the leptotène threads disappear b e f o r e the rest stage while in photo 13, the threads are just emerging a f t e r the long growth period. The large nucleolus has broken and is spread over a larger area than usual.

Plate XII.

Photo 14. A germinal vesicle of an egg from the receptaculum ovorum, showing a little later stage than photo 13. Both the large and small nucleolus are present. The leptotène threads are thicker and in some places they show the longitudinal split characteristic of the later stages. See Foot and Strobell (05) — photos 114 and 115.

Photo 15. A germinal vesicle of an egg from the receptaculum ovorum, showing thicker chromatin threads — "the pachytène stage". We have never found the threads at this stage oriented in any form resembling the bouquet stage. The longitudinal split typically seen at this stage, is not clear in this preparation. The large and small nucleolus are present, and in close contact.

Photo 16. A germinal vesicle of an egg from the receptaculum ovorum, showing the chromatin at the diplotène stage. It is evident the bivalents are longitudinally split and many of them show the point of their transverse division, which occurs in the

first spindle. The large nucleolus has almost disappeared, while the small nucleolus is still dense and chromatic.

Photo 17. A germinal vesicle of an egg from the receptaculum ovorum, at about the same stage of development as the one shown in photo 16.

Photo 18. A germinal vesicle of an egg from the receptaculum ovorum, showing the eleven bivalent chromosomes more contracted than those in photos 16 and 17. There is no longitudinal split visible in these chromosomes, although several of them have divided transversely. Remains of the large nucleolus can be seen but the small nucleolus has disappeared.

Photo 19. In this preparation the membrane of the germinal vesicle has broken down and the large and small nucleolus have disappeared. The chromosomes have reached the stage of development found at the metaphase of the first maturation spindle. See Foot and Strobell (05) — photo 128. In the first division these eleven chromosomes separate transversely.

Referate.

E. Meirowsky, Ueber den Ursprung des melanotischen Pigments der Haut und des Auges. Mit 8 farbigen Tafeln. 23 S. Leipzig, Verlag von Dr. Werner Klinkhardt. 1908.

Meirowsky faßt in dieser Monographie die Ergebnisse seiner früheren (zum großen Teil in den Monatsheften f. prakt. Dermatologie erschienenen) Arbeiten über die Entstehung des melanotischen Pigments der Haut und des Auges zusammen. Außer einer übersichtlichen Zusammenstellung der umfangreichen Literatur über das Thema berichtet der Verfasser über seine eigenen eingehenden Untersuchungen, die wohl berufen sein dürften, eine wesentliche Klärung auf diesem bislang so umstrittenen Gebiete herbeizuführen.

Sie sollen einmal die alte Streitfrage entscheiden, ob das Pigment in der Oberhaut selbst entsteht oder ob es ihr aus der Kutis zugeführt wird, und anderseits die Abstammung des Pigments aus Kernbestandteilen auf morphologischem Wege begründen.

Das Wesentliche seiner Versuche besteht darin, daß die Bildung des melanotischen Pigments in der Haut auf künstliche Weise beschleunigt wird; u. a. durch Bestrahlung anämisierter Hautstellen oder Narben mit der Bunsen- und Quarzlampe; ferner durch Ausziehen von Kopf-, Nacken- oder Halsfedern schwarzer Tauben, wobei leicht eine geringe Blutung hervorgerufen und bei der bald einsetzenden Regeneration der Federn die Bildung von Melanin zugleich mit dem Schicksal des ausgetretenen Hämoglobins verfolgt werden kann; endlich in sehr schöner Weise dadurch, daß überlebende Hautstückchen einige Tage einer Temperatur von 56° im Paraffinschrank ausgesetzt werden. Die Hautstückchen werden sofort in absolutem Alkohol gehärtet und man kann dann (besonders schön durch Färbung mit Methylgrün-Pyronin nach Unna-Pappenheim) die Bildung des Pigments in allen Stadien überraschen.

M. bringt nun durch seine Versuche einmal neue Beweise für die Anschauung, daß eine Pigmentbildung in der Epidermis ohne Melanoblasten (die bislang in der Literatur eine so große Rolle spielten) und ohne irgend eine Beteiligung der Kutis möglich ist, daß anderseits auch in der Kutis unabhängig Pigment entstehen kann, daß somit Kutis — wie Epidermismelanoblasten völlig voneinander unabhängige Gebilde darstellen. So wird es auch wahrscheinlich, daß die oft in der Epidermis pigmentierter Haut vorkommenden verzweigten Zellen (Melanoblasten), über deren Herkunft heftig gestritten wird, in der Epidermis gelegene, präformierte Gebilde sind, deren Pigment im Ruhezustand in den Zellkörper zurückgeströmt ist, so daß die Zelle als einfache pigmentierte Epidermiszelle erscheint, daß aber bei Einwirkung eines besondern Reizes auf die Zelle das Pigment in die präformierten Lücken und Ausläufer einströmt, so daß das Bild einer verzweigten Chromatophore entsteht.

Ferner bringt M. an der Hand zahlreicher, farbiger Abbildungen den Nachweis, (und damit die Bestätigung früherer Autoren), daß das melanotische Pigment aus einer Kernsubstanz entsteht, die — da sie färberisch dieselbe Reaktion wie das Pyrenin zeigt — (so besonders intensive Rötung mit Pyronin) vom Verfasser als »pyrenoide Kernsubstanz« zunächst bezeichnet wird, ohne daß damit über die chemische Natur dieser Substanz irgend etwas ausgesagt werden soll.

Aus den abgebildeten Objekten geht hervor, daß überall, wo es zur Pigmentbildung kommt, zuerst eine Vermehrung der pyroninroten Kernsubstanz erfolgt; diese fließt in die Kernmembran über, tritt von hier allmählich ins Protoplasma aus und zerfällt hier in verschieden geformte, zumeist kuglige oder feinkörnige Gebilde, um dann allmählich alle Übergänge zu wirklichem braunem Pigment erkennen zu lassen; zuerst beginnt eine Braunfärbung des Randes, während das Centrum noch rot ist, bis schließlich alles zum Pigmentkorn geworden ist. Auch im Kern selbst konnte das Auftreten von braunem Pigment neben den pyroninroten Gebilden beobachtet werden, so daß aus allem wohl mit einiger Wahrscheinlichkeit geschlossen werden darf, daß die rote Kernsubstanz in Pigment übergeht. Was sich nun bei künstlich gesteigerter Pigmentproduktion leicht nachweisen läßt, ergibt auch die sorgfältige Untersuchung von normalen Rinderembryonen hinsichtlich des retinalen Pigments, nämlich daß auch an der Retina ein Austritt von Kernsubstanz beobachtet werden kann, die alle Übergänge zu Pigmentschollen zeigt.

Aus den Paraffinschrank-Versuchen mit überlebender Haut wird es nun ferner wahrscheinlich, daß an der Bildung des Pigmentes das Hämoglobin wohl kaum, sondern eher eine Eiweißsubstanz des Kernes beteiligt sein muß, doch erwartet M. in dieser Hinsicht die Entscheidung in erster Linie vom physiologischen Chemiker.

In einigen kurzen Schlußkapiteln wird dann noch die Frage berührt, ob der Austritt pyrenoider Substanz aus dem Kern ein für die Pigmentbildung spezifischer Prozeß ist, was verneint wird (an der Epidermis über Karzinomen, bei Ekzemen usw. kann das Phänomen beobachtet werden, ohne daß es zur Pigmentbildung kommt), und welche Rolle Fermente bei der Pigmentbildung spielen (wahrscheinlich ein oxydatives Ferment — Tryosinase — und ein autolytisches, das einen Abbau der Proteinsubstanzen bewirkt, und so zur Bildung von Tyrosin und ähnlichen Körpern führen könnte, die durch Tyrosinase eine Schwarzfärbung erleiden).

Mit der Hoffnung, daß durch die chemische Forschung, insbesondere durch den Beweis der Identität des künstlichen mit dem natürlichen Melanin, auch diese Fragen noch bald zu einem Abschluß gebracht werden möchten, schließt M. seine Abhandlung, die wohl sicherlich die morphologische Erforschung des melanotischen Pigments der Haut und des Auges zu einem gewissen Abschluß gebracht hat.

Hueck, München.

Guyer, Mich. F. The Spermatogenesis of the domestic Guinea (*Numida meleagris dom.*). In: Anat. Anzeiger. Bd. 34. S. 502—512. 2 Taf. 1909.

Der Verfasser macht die interessante Mitteilung, daß er beim Perlhuhn neben 16 normalen Chromosomen ein Heterochromosom gefunden hat, das wie gewöhnlich, nachdem es in der Wachstumsperiode kompakt geblieben war, in der 1. Reifeteilung ungeteilt in eine Tochterzelle geht, in der zweiten, den Autosomen zeitlich etwas nachschleppend, äquationell geteilt wird. Als beträchtlicher Körper liegt es in den

Spermatidenkernen. Die Spermien zeigen bedeutende, allerdings schwankende Größendifferenzen, die der Verf. auf ihren verschiedenen Chromatingehalt zurückführt. So wichtig dieser sonst bei den Heterochromosomen immer vergeblich gesuchte Umstand wäre, ist doch leider der Beweis kein völlig genügender.

Die an sich anspruchslosen Ergebnisse sind für die Heterochromosomenkenntnis überaus wichtige Erweiterungen, die in der vor kurzem von Winiwarter und Saintmont gemachten Entdecknng eines akzessorischen Chromosoms im Ovar der Katze ihre Ergänzung finden. Für die experimentelle Cytologie ergeben sich, wenn — wie sicher zu erwarten steht — in der nächsten Zukunft der Nachweis einer allgemeineren Verbreitung in der Wirbeltiergruppe erbracht wird, weite neue Möglichkeiten in der Kreuzung verwandter Rassen mit differenten Heterochromosomen.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

Guyer, Mich. F. The Spermatogenesis of the Domestic Chicken (*Gallus gallus dom.*). In: Anat. Anzeiger. Bd. 34. S. 573—580. 2 Taf. 1909.

Auf die obige Mitteilung über ein Heterochromosom des Perlhuhns folgte unmittelbar eine solche über die gleiche Erscheinung beim Haushuhn. Schon bei der Spermatogonienmitose findet sich ein dreigeteiltes Heterochromosom, das sich durch die Spermatocyte in die erste Reifeteilung verfolgen läßt. Hier kommt es vor, daß einer der drei Komponenten selbständig wird, die andern beiden aber keine trennende Grenze mehr aufweisen; immer aber wandert scheinbar die ganze Heterochromosomenmasse in nur eine Tochterzelle, bei deren Mitose sie als einheitlicher Körper etwas nachschleppend auf beide Spermatiden übergeht.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

Grégoire, Victor. La réduction dans le Zoogonus mirus Lss. et le »Primärtypus«. In: La Cellule. t. XXV. p. 243—285. 2 pl. 1909.

Goldschmidt hat 1905 für *Zoogonus mirus* einen Reduktionsmodus beschrieben, dessen sonst nur bei Protozoen wiederkehrende Einfachheit ihn als Primärtypus bezeichnen ließ. Als Normalzahl der Chromosomen fand sich 10. Die gleiche Zahl kehrte wieder in der Prophase der ersten Reifeteilung, nachdem in den Ovocyten keine der gewöhnlich die scheinbare Reduktion begleitenden Bilder zu erkennen waren. Die erste Teilung ist nach ihm eine einfache Längsteilung. In der Metaphase II sind demnach wieder zehn Chromosomen zu zählen; fünf von diesen gehen, ohne daß ein Längsspalt erscheint, in eine Spermatide, fünf in eine andere: das die Weismannschen Theorien illustrierende Schema.

1908 untersuchten A. und K. E. Schreiner das Objekt an der Hand der Goldschmidtschen Präparate. Ihre Darstellung lautet ganz anders. Nach ihnen ist die Normalzahl 20, oder wahrscheinlicher 22, 24 oder 26. In den Ovocyten und Spermatocyten finden sie die von ihnen für eine parallele Konjugation der Schleifen in Anspruch genommenen Stadien wieder. Die Metaphase der ersten Reifeteilung weist zehn (oder 11, 12, 13?) Tetraden auf, die in der die Chromosomen scheidenden Linie auseinanderweichen. Entsprechend werden in Metaphase und Anaphase II 10—13 Chromosomen beschrieben. In heftigster Weise wird der Primärtypus verurteilt.

Goldschmidt antwortete im gleichen Jahre. Er hält fest an der Normalzahl 10, die allein schon der Schreinerschen Auffassung den Boden entzieht, und gibt nur zu,

daß möglicherweise auch eine zweite Form mit zwölf Chromosomen vorkommt. Die »synaptischen« Vorstadien findet nun auch er und spricht diesen, da er im übrigen völlig an der ersten Darstellung festhält und diese z. T. mit neuen, besseren Bildern belegt, jeden prinzipiellen Zusammenhang mit einer Chromosomenkonjugation ab.

Grégoire, in dessen Reduktionsschema der Fall *Zoogonus* sich auch nicht fügen wollte, studierte nun ebenfalls die Originalpräparate und gelangte zu Ansichten, die teils mit denen Goldschmidts, teils mit denen Schreiners harmonieren. Nach ihm ist die Chromosomenzahl 12, in der ersten Reifeteilung jedoch konstatiert er, im Gegensatz zu beiden Vorgängern, sechs Tetraden; gebildet werden sie durch Längskonjugation. Die erste Teilung trennt die Komponenten. Anaphasen mit sechs Chromosomen finden sich nur zufällig in den Präparaten nicht. Wenn die Vorgänger hier mehr als sechs zählten, hatten sie in Wirklichkeit Furchungsmitosen vor sich oder sie hatten in einem andern Fall Nucleolen für Chromosomen gehalten, sechs Chromosomen liegen auch in den Ruhekernen zwischen beiden Reifeteilungen, sechs Chromosomen gehen in die zweite Teilung ein, in der sie längs gespalten werden.

Grégoire ist froh, daß er kurz vor Abschluß des zweiten Teils seiner literarischen Bearbeitung der Reifeteilungen diesen seiner alles egalisierenden Auffassung im Wege stehenden Fall zu erledigen Gelegenheit hatte; dem Cytologen aber, der die zum Teil mit recht scharfer Feder geführte Polemik verfolgte, bleibt ein peinliches Gefühl, daß in der Beurteilung nicht nur des gleichen Stoffes, sondern der gleichen Zelle Forscher von Ruf zu so unvereinbaren Ansichten bezüglich rein morphologischer Fragen gelangen können.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

Janssens, F. A. et Willems, J. Spermatogenèse dans les batraciens. La spermatogenèse dans l'Alytes obstetricans. In: La Cellule. t. XXV. p. 149—178. 2 pl. 1909.

Die Chromosomen werden paarweise geordnet. Die Längskonjugation geht während eines nach einem Centriol im Plasma orientierten Bukettstadiums vor sich. Im Pachytenstadium, das so entsteht, glauben die Verf. eine wirkliche Amphimixis der Konjuganten lokalisieren zu müssen. Die Ringtetraden entstehen nicht etwa durch Umklappen, sondern durch ein unvollständiges Auseinanderweichen der Konjuganten; ebenso ist eine Längsspaltung der pachytenen Schleifen die Ursache der übrigen V, X oder Y-förmigen Tetraden.

Janssens fügt unter anderm eine Auseinandersetzung mit Meves an, die die Frage nach der parallelen Konjugation behandelt.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

Deton, Willy. L'étape synaptique dans l'ovogenèse du Thysanozoon Brochii. In: La Cellule. t. XXV. p. 131—147. 1 pl. 1909.

Schockaert (1902) schilderte vor dem eigentlichen Eiwachstum ein Bukettstadium mit längsgespaltenen reduzierten Chromosomenschleifen, sieht aber hierin nicht die Vorbereitung zur künftigen Reifeteilung, sondern läßt die Schleifen in ein homogenes Netz übergehen, in dem die Tetraden ihre Individualität verlieren und aus dem sie später de novo entstehen. An der Hand der gleichen Präparate schildert Deton eine Längskonjugation; auf das pachytene Stadium folgen strepsitene Kerne, deren Tetraden-

komponenten während des Wachstums erhalten bleiben und unmittelbar in die Tetraden der ersten (reduzierenden) Reifeteilung übergehen — der Typus der préréduction zygoténique des Lehrers GRÉGOIRE besteht zu recht.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

DEBAISIEUX, PAUL. Les débuts de l'ovogenèse dans le Dytiscus marginalis. In: La Cellule. t. XXV. p. 205—236. 2 pl. 1909.

GIARDINA (1904) läßt in seiner berühmt gewordenen Untersuchung über das Dytiscusovar den bei den differenzierenden Ovogonienteilungen stets die Eizelle begleitenden Körper vor der ersten dieser Teilungen aus einer Anzahl Chromosomen entstehen. DEBAISIEUX hat ihn jetzt bereits in früheren Teilungen gefunden, die zu noch gleichwertigen Produkten führen. Zwischen den Mitosen verschwindet er, die Neubildung besteht in der allmähligen Einlagerung chromatischer Granula in eine schon vorher zu beobachtende achromatische Masse. Der Meinung GIARDINAS, daß ein Teil der Chromosomen degenerieren, wird die auch sonst angenommene gegenübergestellt, daß es sich nur um die Trennung von Chromatinsorten handle. Die Angaben über die ungleiche Verteilung werden vollkommen bestätigt. Ergänzungen werden wieder gebracht zur Spermatocytenperiode. Während der Vorgänger von den sog. synaptischen Phänomenen fast nichts beobachtete, findet DEBAISIEUX die wesentlichen Stadien vor. Eine schwach ausgebildete polare Orientierung pachytener Schleifen, strepsitene Kerne usw. werden abgebildet, nur leptotene Stadien fanden sich in den Präparaten nicht. — Die Angaben über das endgültige Schicksal des GIARDINAschen Körpers im herangewachsenen Ei, die bisher ausstanden, sind dem Ref. von besonderm Interesse, weil sie dessen Parallele zwischen dem akzessorischen Chromosom im Ovar von *Gryllus* (1909) und dem hier behandelten Gebilde von mehr nucleolarer Natur noch mehr unterstützen. Ganz in gleicher Weise zerfällt dieses in kleine hier mehr fädige, dort körnige Partikelchen, die den ganzen großen Kernraum gleichmäßig durchsetzen und einen offenkundigen Ersatz für die in beiden Fällen fehlenden Einucleolen bilden. Die Chromosomen bleiben während dieses Zustandes bei *Dytiscus* erhalten, bei *Gryllus* nicht. **P. Buchner** (z. Z. Neapel).

GOLGI, C. Sur une fine particularité de structure de l'epithélium de la muqueuse gastrique et intestinale de quelques vertébrés. In: Arch. ital. Biol. tom. LI. pag. 213—245. 2 tav. 1909.

Den kurzen Mitteilungen sachlicher Natur geht eine 25 seitige historisch-kritische Einleitung über die Netzstrukturen im Plasma voraus. Außer den eigenen Untersuchungen des Verf. werden die seiner Schüler, die von BALLOWITZ, HOLMGREN, RAMON Y CAYAL, GOLDSCHMIDT, HERTWIG und manchen andern abgehandelt. GOLGI nimmt gegenüber der neuen, nach einheitlichen Gesichtspunkten strebenden Richtung, die in all diesen Dingen prinzipiell das gleiche sieht, ohne dabei die Möglichkeit, ja die Notwendigkeit außer acht zu lassen, sie eines Tages, besonders an der Hand von Experimenten, in speziellen Zwecken dienende Unterabteilungen ordnen zu müssen, eine ablehnende Stellung ein. Sein apparato reticulare soll etwas ganz anderes sein als die übrigen oft so ähnlichen Gebilde des Chromidialapparates. Diese Ähnlichkeit gilt auch in besonderm Maße für die in der Folge beschriebenen Strukturen aus dem Epithel der Mucosa des Magens und Darms des Frosches, unregelmäßige Netzwerke mit vielfach freien Enden, die

beachtenswerterweise entsprechend der allmählichen Metamorphose der Epithelzelle morphologisch, topographisch und quantitativ variieren. Bei der isolierten Stellung, die Golgi dem apparato reticulare anweist, kann es nicht wundernehmen, daß er in ihm eine Erscheinung sieht, über der »vollständige Dunkelheit« ruht.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

P. Morawitz, Über Oxydationsprozesse im Blut. — Arch. exper. Path. Pharm. Bd. LX. S. 298—311. 1909.

In dieser Arbeit weist der durch seine grundlegenden Untersuchungen in der Hämatologie spez. auf dem Gebiete der Blutgerinnung bekannte Kliniker in sehr exakter Weise eine Sauerstoffzehrung des Blutes, bzw. der roten Blutzellen nach; und zwar mittels der Barcroft-Haldaneschen Methode an künstlich (durch Phenylhydrazinvergiftung oder starken Blutentzug) anämisch gemachten Kaninchen, bei denen also eine starke Blutzellenregeneration im Gange war. Durch Zentrifugieren und getrennte Untersuchung der verschiedenen Blutschichten ließ sich ermitteln, daß dieser Gaswechsel (Sauerstoffzehrung und Kohlensäureproduktion) an die jungen, aber bereits kernlos gewordenen Erythrozyten gebunden ist, welche infolge der lebhaften Regeneration den Hauptbestand der vorhandenen geformten Elemente ausmachen. — Dieser Befund ließ sich nun nicht in Einklang bringen mit der von J. Loeb vertretenen Ansicht, wonach die Oxydationsprozesse in erster Linie dem Zellkern zukommen sollen. Es war diese entgegengesetzte Beobachtung an Blutzellen um so auffallender, als O. Warburg zu gleicher Zeit am Gänseblut, wo ja nur kernhaltige Erythrozyten vorhanden sind, einen bedeutend geringeren Sauerstoffverbrauch nachweisen konnte, als dies in vielen der Morawitzschen Versuche an den kernlosen Blutzellen der Fall war. Durch Loebs Theorie veranlaßt sprach Morawitz die Vermutung aus, es dürfte vielleicht die Ausnahme, die seine Versuche bieten, nur eine scheinbare sein. Wenn nämlich in den Erythrozyten auch morphologisch nichts mehr von Kernstruktur zu erkennen sei, so müßte doch mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß die Kernsubstanz (hauptsächlich Nucleinstoffe) noch in gelöstem Zustand im Erythrozyt enthalten seien. Diese Vermutung lag um so näher, als von einigen Seiten die (bei anämischen Kaninchen sehr ausgeprägte) Polychromatophilie junger Erythrozyten, also ihre Neigung basische Farbstoffe aufzunehmen, mit der Auflösung des Kerns in Beziehung gebracht wird.

[Nun ist aber die Loebsche Theorie von der »Alleinherrschaft des Kerns« im allgemeinen, und gerade auch in bezug auf die Atmung, von Max Verworn stark erschüttert worden. Nicht nur hat Verworn auf Grund seiner bekannten Versuche an kernhaltigen und kernlosen Protozoenstücken nachgewiesen, daß zum mindesten auch das Plasma in ebensolchem Maße wie der Kern an der Atmung der Zelle beteiligt sein müsse, sondern er glaubt sogar — vor allem an Hand der Demoorschen Versuche — dem Kern jede Atemfunktion absprechen zu dürfen, so daß also das Plasma allein zur Respiration befähigt sein sollte. Dies dürfte aber nun ebenfalls zu weit gegangen sein. Denn wohl hat Demoor feststellen können, — und Olga Nabokisch hat es in der Hauptsache bestätigt, — daß im sauerstoffreien Raum das Plasma (von Tradescantiazellen bzw. Leucocyten) erstickt, während der Kern seine Teilungen (bzw. amöboiden Bewegungen) unbekümmert fortsetzt. Daraus läßt sich aber eigentlich doch nur schließen, daß der Kern ohne Sauerstoff leben kann, das Plasma aber nicht; dagegen wäre hiermit nicht ausgeschlossen, daß der Kern zur »intramolekularen Atmung« (zur Anoxybiose) befähigt wäre. Ja, das scheint vielmehr geradezu aus Demoors Versuchen hervorzugehen.

In einem andern Teil derselben weist der belgische Forscher nämlich nach, daß im reinen Sauerstoff nicht nur die Tätigkeit des Plasmas, sondern offenbar auch die Vitalität des Kerns erhöht ist. Da hierfür keine Rückwirkung des Plasmas auf den Kern verantwortlich gemacht werden darf, — eine solche hatte ja gerade im ersten Teil der Versuche ebenfalls nicht bestanden, — so zog schon Demoor den Schluß, daß dem Kern die Fähigkeit zukommt, ohne Sauerstoff zu leben. Unentschieden ist nur noch die Frage, ob der Kern ständig in der Zelle anoxybiotisch lebt, oder ob dies nur unter gewissen Umständen, eben bei Sauerstoffentzug, der Fall ist. Jedenfalls scheint schon jetzt aus all dem hervorzugehen, daß, was die Atmung betrifft, das heftige Turnier zwischen Verworn und Loeb um die Alleinherrschaft sei es des Plasmas sei es des Kerns schließlich auf der breiten, goldnen Mittelstraße des Horatius enden dürfte. Der Ref.] — Was den von Morawitz beobachteten Fall anbetrifft, so bleibt, wie dieser hervorragende Forscher selbst andeutet, noch die Frage offen, inwieweit die beobachtete Sauerstoffzehrung des anämischen Blutes etwa mit den lebhaften Regenerationsprozessen oder mit dem Vorgang der Entkernung selbst zusammenhängt.

Strohl (Zürich).

Sui mutamenti che subiscono i mitocondrî ed i materiali deutoplasmici dell' oocite di Coniglia in diversi periodi di inanizione.

Per il

Prof. **Achille Russo.**

Direttore dell' Istituto d'Anatomia e Fisiologia comparate della R. Università di Catania (Italia).

Con 3 figure nel testo ed tavola XIII.

Il contenuto di questa nota è rivolto a dimostrare che, mediante l'azione di stimoli determinati, ed in questo caso per l'azione del digiuno, si possa fare variare la minuta struttura delle parti che compongono l'oocite. La dimostrazione di tale verità ha un notevole valore biologico, poichè ci permette di apprezzare meglio alcuni fenomeni vitali, che sono connessi con la particolare struttura delle cellule sessuali.

In una nota precedente[1]) ho tracciato l'evoluzione del condrioma ovulare, durante tutto il ciclo vitale dell' oocite di Coniglia. Da tale studio è risultato che i granuli mitocondriali assumono una particolare disposizione, che è relativa alla formazione dei materiali deutoplasmici, rappresentati dai vacuoli e dai globuli vitellini a struttura mielinica.

Questi due costituenti del deutoplasma si osservano solo negli oociti, che hanno raggiunto uno stadio più tosto avanzato dello sviluppo; poichè, mentre ancora non si sono formati in quelli con follicolo di uno o due strati di cellule, si osservano sempre in quelli più sviluppati.

Per la valutazione esatta dello stato in cui si trovano nelle Coniglie digiunanti i mitocondrî, i vacuoli ed i globuli vitellini, è necessario

[1]) Russo, A., I mitocondrî ed i globuli vitellini dell'oocite di Coniglia allo stato normale ed in condizioni sperimentali. Contributo allo sviluppo del deutolecite ed alla differenziazione sessuale delle ova dei mammiferi (Nota 1a). Atti dell' Accademia Gioenia di Sc. Nat. Catania. Vol. II. Ser. 5a. 1909.

tenere presente lo stato di tali costituenti nelle Coniglie normali; per la qual cosa rimando il lettore alla nota citata.

Durante il digiuno i materiali deutoplasmici contenuti nel vitello delle ova, non corrispondono al grado di sviluppo del follicolo; per cui, a causa delle condizioni speciali del metabolismo, si ha o un' accelerazione nella formazione di tali costituenti protoplasmatici, ovvero una distruzione totale o parziale di essi. Tale comportamento derivada varie circostanze, fra le quali, credo, abbia notevole importanza lo stadio di sviluppo, in cui si trovano gli oociti al momento in cui sono colpiti dalla inanizione, e la durata stessa del digiuno in cui sono tenute le Coniglie.

Per facilità di descrizione considero le variazioni tipiche ed estreme, come per la durata del digiuno riferisco su due periodi diversi, in cui le variazioni, che si osservano nella struttura del vitello, sono anche diverse. Difatti, in un primo periodo, in cui l'animale può essere sagrificato dopo 4—5 giorni di digiuno completo, l'inanizione agisce come uno stimolo, che accelera la formazione ed il consumo dei costituenti deutoplasmici, per la qual cosa aumenta anche l'attività secretoria della cellule follicolari. In un secondo periodo invece, in cui l'animale può essere ucciso quando si è raggiunto l'esaurimento di quasi tutti i poteri fisiologici, i materiali deutoplasmici scompaiono affatto e si deformano i mitocondrî, mentre la cellula-ovo si avvizzisce insieme alle cellule follicolari.

Tecnica. — Per permettere il confronto con quanto si osserva nelle ovaie delle Coniglie normali, similmente a quanto ho esposto nella nota precedente[1]), ho adoperato anche per queste ricerche i metodi di fissazione e di colorazione proposti dal Benda.

Per la colorazione fu spesso anche adoperato l'*Ematossilina ferrica* di Heidenhain, la quale mette in evidenza alcuni dettagli, che hanno anche il loro valore per la valutazione dei fenomeni che vado a descrivere.

1°. Digiuno completo di 5 giorni in una Coniglia di 6—8 mesi circa.

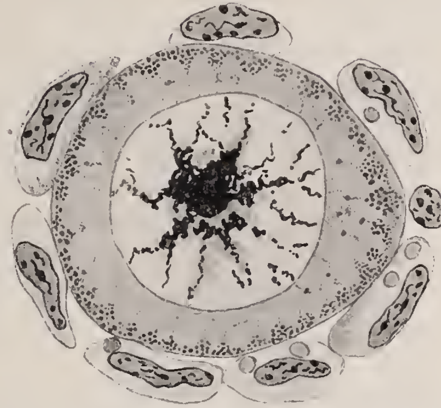
a) Negli oociti con follicolo a cellule piatte la massa dei mitocondrî è posta alla periferia del protoplasma, dove forma tanti aggruppamenti dai quali si dipartono, verso il centro dell'ovo, delle file di granuli mitocondriali (fig. 1a). Alcuni di questi granuli sono sparsi nel protoplasma, in cui formano qua e là dei cumuli.

In questo stadio raramente si trovano globuli vitellini, riconoscibili, con la colorazione Benda, per il colorito rosso-aranciato, però la

1) Russo, A., loc. cit.

disposizione dei granuli mitocondriali in piccoli cumuli ed il fatto che molte granulazioni sono più grosse che nello stadio corrispondente dell' oocite normale, fa ritenere che in questo 1º periodo di digiuno i mitocondrî siano stimolati a trasformarsi precocemente in materiale deutolecitico.

Fig. 1a.



Oocite con follicolo a cellule piatte, preso da ovaia fissata con liq. Benda e colorata con *Ematossilina ferrica*. Le cellule follicolari contengono globuli di secrezione. Da *Coniglia* tenuta 5 giorni in digiuno completo. Zeiss oc. 18. obb. imm. om. 1/16.

Nelle colorazioni ottenute con l'*Ematossilina ferrica* i granuli mitocondriali non si colorano così intensamente in nero, come nello stato normale, e si osservano anche alquanto gonfiati, il che costituisce anche un segno della loro diretta trasformazione in globuli deutoplasmici.

b) Negli oociti con follicolo a cellule cubiche (fig. 2a) i granuli mitocondriali formano già una rete che occupa quasi tutta la superficie ooplasmica, similmente a ciò che si osserva nelle Coniglie normali in uno stadio più evoluto, cioè negli oociti con follicolo di 1—2 piani di cellule. Tra i granuli si trovano intercalati di tratto in tratto dei globuli vitellini, riconoscibili facilmente per la loro forma e per la colorazione tendente al rosso-aranciato. Questi globuli nel normale si cominciano solo ad osservare negli oociti con 3 o più piani di cellule; cosicchè, per le condizioni speciali del digiuno a cui fu assoggettata la *Coniglia*, nello stadio considerato, si ha un'

Fig. 2a.



Oocite con follicolo di 1—2 piani di cellule, da ovaia fissata e colorata c. s. Da *Coniglia* in digiuno completo di 5 giorni. Il vitello è ricco di globuli vitellini, che nel normale, a questo stadio, mancano affatto. Ingrandimento c. s.

accelerazione dello sviluppo di tali costituenti deutoplasmatici.

Anche i vacuoli vitellini qualche volta si osservano in gran parte costituiti in questo stadio, mentre nelle *Coniglie* normali si formano quando l'oocite è circondato di un follicolo di 2 o più strati di cellule. (Stadio 3º dell' evoluzione dell' oocite, trattata nella nota precedente).

c) Nell' ooplasma degli oociti con follicolo di 2 o più piani di cellule si osserva già formata una regolare rete vitellina, che limita i vacuoli vitellini. Lungo le maglie di tale rete sono sparsi i globuli vitellini, tinti in rosa (fig. 3a), i quali sono molto numerosi quando il follicolo è bistratificato (fig. 2a nel testo), ma poco abbondanti negli stadî più inoltrati delle sviluppo.

Negli oociti con follicolo polistratificato i globuli vitellini sono molto più grossi che nello stadio normale corrispondente e sono poco numerosi, essendo per lo più situati nei punti nodali della rete vitellina. Anche la colorazione di tali globuli è alquanto sbiadita.

d) Nelle ova, circondate da un follicolo, avente una larga cavità follicolare, si osservano dei granuli di diversa grandezza e di diversa tonalità di colore sparsi sulle maglie della rete vitellina. Alcuni sono piccoli e di colore azzurro intenso, e questi sono i mitocondrî, che in questo stadio sono in quantità minore che nello stadio normale corrispondente. Altri sono più grossi e di un colorito azzurro più sbiadito tendente al violetto, altri ancora sono più grossi e con una tinta tendente al roseo.

Per questi stadî, che rappresentano tanti termini di passaggio della trasformazione del granulo mitocondriale al globulo vitellino, si arriva alla formazione di questo costituente deutoplasmico, il quale è di colore decisamente rossastro e di forma rotondeggiante (fig. 8a).

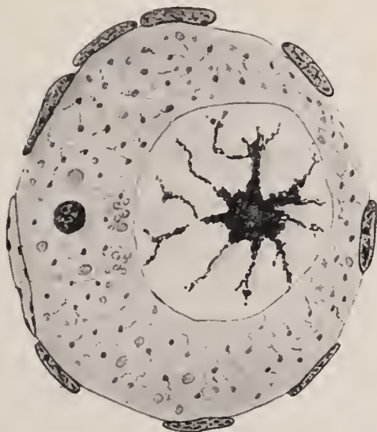
* * *

Da quanto sopra ho esposto si può dedurre che in un primo periodo il digiuno agisce come uno stimolo, il quale eccita i tessuti dell' ovaia a compiere più rapidamente le loro funzioni. Infatti, nell' ooplasma degli oociti a cellule piatte ed a cellule cubiche, invece dei granuli mitocondriali ridotti in gran parte alla periferia, come nelle *Coniglie* normali, si osservano già in diverso grado formati i globuli vitellini, che sono una parte essenziale del deutoplasma. In questi medesimi stadî si osserva anche spesso già formati alcuni vacuoli vitellini, che, nel normale, si costituiscono negli oociti più progrediti nello sviluppo.

Relativamente a tale aumento di attività, aumenta anche l'attività secretrice delle cellule follicolari. Difatti, come si osserva nella figura 1a,

inserita nel testo, che rappresenta un oocite con follicolo a cellule piatte, le cellule follicolori medesime sono più grosse che nel normale e nel loro protoplasma, dalle parte che è rivolta all' ovo, sono alcuni globuli di secrezione. Globuli consimili si osservano anche quando le cellule follicolari sono divenute cubiche. Difatti, come si osserva nella fig. 2a della tavola, il protoplasma di queste cellule, nella sua porzione basale, che poggia sulla zona pellucida, presenta un fitto intreccio di fili, che si colorano in azzuro come i mitocondrî, e fra questi si osservano dei globuli di secrezione di varia grandezza, che si colorano in rossastro.

Fig. 3a.



Oocite con follicolo a cellule piatte, di *Coniglia* uccisa dopo un diginno di 10 giorni, consecutivo al parto. Fissazione, colorazione ed ingrandimento c. s. Nel vitello si osservano dei filamenti esilissimi, tinti in nero, ultimo residuo della sostanza mitocondriale (?), e dei globuli grigiastri (globuli vitellini) derivati verosimilmente dalla trasformazione dei mitocondrî. Le cellule follicolari sono ridotte a sottili lamelle.

Negli stadi di sviluppo degli ociti, successivi a quelli con follicolo a cellule cubiche, l'aumento dell' attività elaboratrice delle cellule follicolari non è più apprezzabile. Ciò, secondo il mio parere, è in relazione con la formazione dei materiali deutoplasmici, che in questi stadî è in gran parte avvenuta. In questi stadî i materiali stessi, già formati, provvedono agli scambî necessari alla vita dell' oocite, come è dimostrato dalla distruzione parziale di essi. Difatti, negli oociti con follicolo polistratificato, come si osserva nella fig. 3a, al contrario di ciò che si vede in quelli con follicolo di 1—2 piani di cellule (fig. 2a nel testo), i globuli vitellini sono molto diminuiti, essendo essi per lo più situati nei punti nodali della rete vitellina.

Le osservazioni riferite in questo capitolo vengono anche meglio a confermare che i granuli fondamentali del protoplasma, di natura mitocondriale, possano direttamente, sotto l'azione di stimoli determinati, partecipare alla formazione dei globuli vitellini. Difatti, negli oociti con follicolo a cellule piatte i granuli mitocondriali si mostrano in gran parte gonfiati e con colorazione tendente al rosa, come nei globuli vitellini. Nei follicoli più sviluppati si possono poi seguire tutte le fasi di tale trasformazione, come fu rappresentato nella fig. 8a.

In questo punto sorge però una quistione molto importante, che fu recentemente messa in rilievo da GIGLIO-TOS[1]). Questo autore fa notare che le modificazioni o anche trasformazioni a cui sperimentalmente io ho assoggettato i mitocondrî mal si conciliino con l'ipotesi dell' individualità ed eredità dei mitocondrî medesimi.

Ora, a questo proposito. è quistione d'intendersi meglio, poichè il concetto che mi sono andato formando sull' ufficio dei mitocondrî, di accordo con il MEVES[2]). si è quello che essi, pur essendo elementi essenziali del protoplasma e pur persistendo nella cellula, possono dar luogo con la loro attività, a strutture specifiche e nel caso dell' oocite ai globuli vitellini. Ciò non toglie però che, per questo stesso fatto, i mitocondrî, in determinati periodi di attività. possano diminuire per ricostituirsi subito dopo. come lo dimostrano i risultati sperimentali, sopra riferiti, e come è dimostrato dagli oociti normali, dove nello stadio in cui cominciano a formarsi i globuli vitellini, cioè nello stadio 3° dell' evoluzione del deutolecite, tracciata nella nota precedente[3]), i mitocondrî stessi sono poco evidenti.

In quanto al concetto. sostenuto dal MEVES[4]). e su cui pare siano tutti di accordo, cioè che tali costituenti protoplasmatici siano elementi ereditarî, la modificazione della struttura mitocondriale, ottenuta in condizioni sperimentali ed osservata in periodi speciali della vita cellulare, non esclude la natura ereditaria di tali costituenti protoplasmatici.

---

[1]) GIGLIO-TOS, E., I mitocondrî nelle cellule seminali maschili di *Pamphagus marmoratus* (Burm.). Biologica. Vol. II. Nr. 4. 1908. p. 28.

[2]) MEVES, FRIED., Über Mitochondrien bzw. Chondriokonten in den Zellen junger Embryonen. Anat. Anz. Bd. 31. 1907.

MEVES, FRIED., Die Chondriokonten in ihrem Verhältnis zur Filarmasse FLEMMINGS. Anat. Anz. Bd. 31. 1907.

[3]) Circa alla diretta partecipazione dei mitocondrî alla formazione delle sostanze elaborate dalla cellula, fra i molti lavori, si confronti il recente di CL. REGAUD: »Participation du Chondriome à la formation des grains de ségrégation dans les cellules des tubes contournés du rein (chez les Ophidiens et les Amphibiens)«. Comptes rendus de la Soc. de Biologie. T. LXVI. 1909.

Anche il Buscalioni anni or sono aveva osservato che i granuli protoplasmatici prendono parte diretta alla formazione della membrana cellulosica nell'ovulo di alcune piante: Cfr. Contribuzione allo studio della membrana cellulare. Malpighia. An. VII. 1893.

[4]) Russo, A., Loc. cit.

[5]) MEVES, FRIED., Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. Cytologische Studien am Hühnerembryo. Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. 72. 1908.

Difatti, se i caratteri ereditarî, in circostanze determinate, possono modificarsi, come nessuno più ne dubita, i mutamenti che avvengono nella struttura fondamentale del protoplasma cellulare, potrebbero essere la spiegazione causale del fenomeno o per lo meno di una parte di esso. Del resto è ovvio ricordare che la cellula non è un campo chiuso per credere che i mitocondrî siano intangibili, ma che essa nelle sue molteplici manifestazioni vitali, risente tutte le influenze dell' ambiente, anche le minime, che noi con i nostri mezzi di osservazione spessissimo non possiamo rilevare!...

2°. Coniglia di circa 8 mesi, tenuta in digiuno dopo il parto.

A questo soggetto fu somministrato, dopo il parto, mattina e sera da 20 a 25 gr. di verdura; esso fu ucciso alla fine del 10° giorno, quando già si erano manifestati i segni di una prossima fine. I piccoli in numero di 5 furono lasciati alla madre, però essi morirono successivamente dopo pochi giorni di allattamento.

a) In alcuni oociti con follicolo a cellule piatte si osservano ancora dei granuli mitocondriali, riconoscibili per la loro colorazione azzurra. In altri invece si osservano sparsi qua e là nel citoplasma dei piccoli grumi di sostanza mitocondriale. In altri oociti, al medesimo stadio, come fu rilevato nella fig. 5a, si osserva un sistema di filamenti sottili, disposti in reticolo, di colore azzurrognolo, nei cui punti nodali sono degli ammassi più o meno rotondeggianti, con una tinta tendente al roseo. Sono questi, con ogni probabilità, i residui dei globuli vitellini, formatisi a spese dei mitocondrî in un primo periodo del digiuno.

b) Negli oociti con follicolo a cellule cubiche o quasi cubiche, come si rileva dalla fig. 6a, si osservano soltanto alcuni residui della rete mitocondriale, in cui i granuli mitocondriali sono molto deformati e tinti in azzurro molto sbiadito.

In alcuni oociti, anche allo stesso stadio, alla periferia dell' ooplasma si osservano dei globuli, che si tingono leggermente in rosa, dopo la colorazione Benda, ed in un grigio molto sbiadito con l'*Ematossilina ferrica.* A tali globuli sono frammiste poche granulazioni di natura mitocondriale, che si colorano leggermente in azzurro col Cristalvioletto e leggermente in nero con l'*Ematossilina ferrica.*

c) Negli oociti con follicolo polistratificato o in cui sono già spazî pieni di liquido follicolare, l'ooplasma è occupato da una rete a maglie irregolari, lungo la quale si distinguono varie granulazioni, distinte fra loro per la grandezza e per il vario colorito che assumono dopo colorazione con il metodo proposto dal Benda. I globuli vitellini sono molto rimpiccioliti e

di una tinta assai sbiadita. mentre nel 1º periodo del digiuno erano rotondeggianti e tinti in un bel rosa. Tutti questi globuli sono di varia grandezza quasi che fossero in diversi gradi della loro distruzione.

In questo stadio i granuli mitocondriali sono molto ridotti e deformati, con una colorazione che non è più quella caratteristica di tali costituenti protoplasmatici, per cui si potrebbe dubitare delle loro vera natura. Colorando però con l'*Ematossilina ferrica*, sebbene tali minuti granuli si colorino poco in nero, si osservano diposti in cordoncini, per cui pare che siano gli ultimi resti della sostanza mitocondriale.

* * *

Da quanto fu esposto in questo capitolo risulta che nel periodo finale dell' inanizione i materiali deutoplasmici (globuli e vacuoli vitellini) vengono impiegati dall' oocite per i suoi ordinarî processi metabolici, per cui essi sono in gran parte distrutti. I globuli vitellini, infatti, sono più piccoli e molto sbiaditi in confronto del normale ed in confronto del 1º periodo di digiuno. I vacuoli vitellini alla loro volta sono raggrinzati e più piccoli, per la diminuzione del loro contenuto.

I granuli mitocondriali, in questo ultimo periodo del digiuno, persistono ancora, ma è difficile la loro identificazione, perchè sono molto deformati. Essi, difatti, non hanno più la forma granulare e la colorazione azzurra caratteristica, come nel normale, ma sono di forma più o meno irregolare e molto sbiaditi. Nelle preparazioni ottenute colorando con l'*Ematossilina ferrica* sulla rete vitellina si osservano dei globuli sbiaditi di varia grandezza, sempre però molto piccoli, ed alcuni puntini neri, che rappresentano l'ultimo resto della sostanza mitocondriale.

L'esaurimento arrecato all' organismo dalle condizioni speciali di un prolungato digiuno fa sì che le ova con i rispettivi follicoli siano più piccoli dell' ordinario, quasi atrofiche.

Difatti, nei follicoli a cellule piatte, queste sono ridotte a sottili lamelle e nei follicoli polistratificati il protoplasma delle cellule è molto assottigliato ed il nucleo è raggrinzato.

Nei follicoli aventi una cavità follicolare, come fu esposto in una nota precedente[1]), le cellule della granulosa parietale si distruggono mediante il processo cromatolitico, provvedendo così alla formazione di materiale nutritizio, necessario per la vita dell' ovo.

Catania, Settembre 1909.

---

[1]) Russo, A., Sulla cromolisi delle cellule della granulosa durante il digiuno e sul suo significato nella differenziazione sessuale delle ova nei mammiferi. Atti dell' Acc. Gioenia di Sc. Nat. Catania. Vol. 2. Ser. 5a. 1909.

Fig. 1.

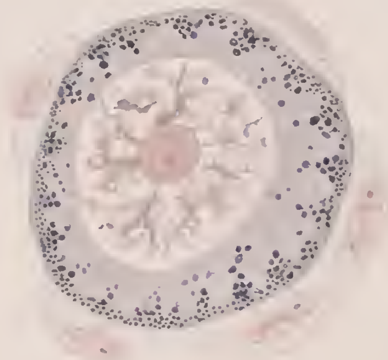


Fig. 2.

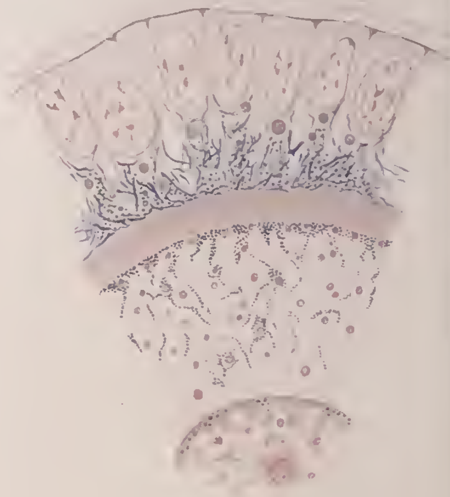
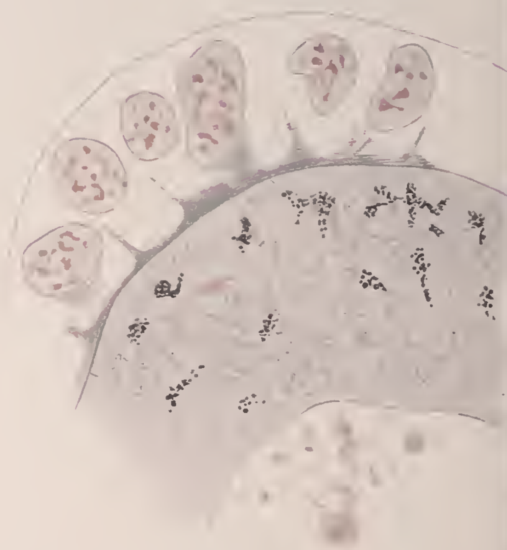


Fig. 5.



Fig. 6.



Verlag von Wilh

Fig. 3.

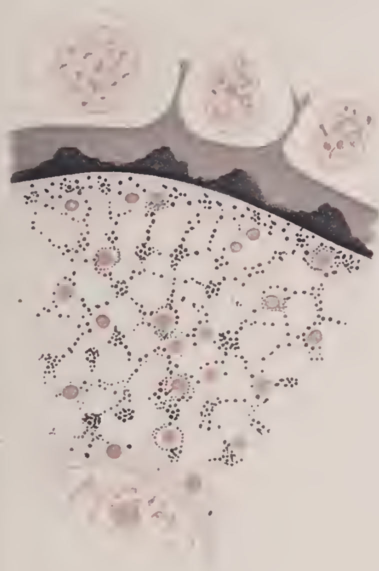


Fig. 4.

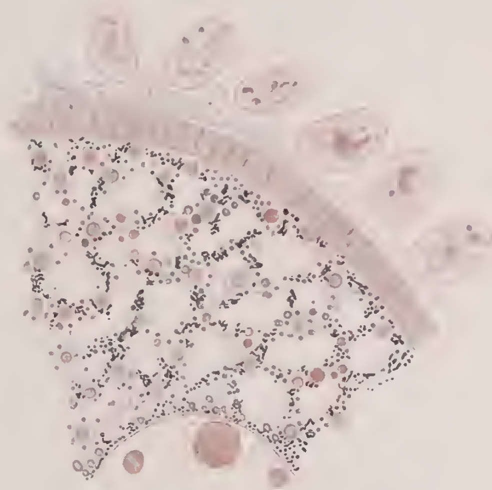


Fig. 7.

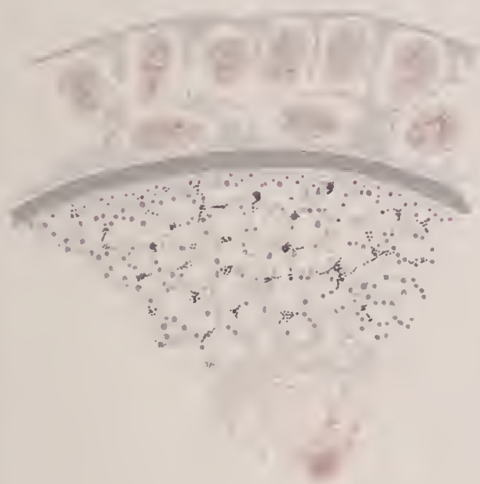


Fig. 8.



Engelmann in Leipzig

Lith. Anst. v. Johannes Arndt Jena

Spiegazione delle figure.

Tutte le figure furono ritratte da sezioni di ovaie fissate e colorate con i metodi Benda, per lo studio dei mitocondrî.

Tutte furono ritratte con Camera lucida Nachet, applicata ad un Microscopio Zeiss gr. mod. oc. 18. obb. imm. om. 1 : 16. La carta da disegno fu tenuta a livello del tavolino del microscopio.

Le figure 1, 2, 3, 4, ed 8 furono ricavate da ovaie di *Coniglia*, *uccisa* dopo 5 giorni di digiuno completo. Le figure 5, 6, 7 furono ricavate da ovaie di *Coniglia*, *uccisa* dopo 10 giorni di digiuno, consecutivo alla gravidanza.

Fig. 1ª. Oocite con follicolo a cellule piatte.
Fig. 2ª. Oocite con follicolo a cellule cubiche.
Fig. 3ª. Oocite con follicolo polistratificato.
Fig. 4ª. Oocite con follicolo, avente una larga cavita follicolare.
Fig. 5ª. Oocite con follicolo a cellule piatte.
Fig. 6ª. Oocite con follicolo a cellule quasi cubiche.
Fig. 7ª. Oocite con follicolo bistratificato.
Fig. 8ª. Trasformazione diretta dei mitocondrî in globuli vitellini.

Le cinesi spermatogenetiche di Pamphagus marmoratus (Burm.).

Del

Dr. Leopoldo Granata.

Dell' Istituto Zoologico della R. Università di Cagliari.

Con una figura nel testo e le tavole XIV—XVI.

I. Introduzione.

Lo studio delle cellule seminali maschili di *Pamphagus marmoratus* fu iniziato fin dall' anno scorso dal Prof. Giglio-Tos e da me (15) con alcune ricerche sul comportamento dei mitocondrî nelle cinesi di maturazione; ed io sono grato al Prof. Giglio-Tos che mi ha voluto affidare la cura di più estese osservazioni sulla spermatogenesi di questo ortottero, certo non prive di interesse, date le molte questioni che si vanno oggi dibattendo sulla spermatogenesi in generale e su quella degli ortotteri in particolare, sebbene, dopo le prime ricerche di Carnoy (5), questi siano stati oggetto di accuratissimi studî da parte dei più reputati citologi. Ben a ragione osserva Davis (6) come forse in nessun altro gruppo i varî investigatori sono giunti a così diversi risultati.

Per quanto riguarda specialmente le divisioni di maturazione le opinioni sono tra le più varie ed opposte.

Tra i più antichi ricercatori vom Rath ammise, come è noto, che nella *Grillotalpa* le divisioni si compiessero una longitudinalmente e l'altra trasversalmente, secondo lo schema di maturazione proposto da Weismann. Mc Clung (22, 23) studiando un gran numero di Acrididi e di Locustidi trovò che la 1a divisione è longitudinale e la 2a trasversale, separando questa i cromosomi coniugati linearmente (end to end). E questo schema postriduzionale è confermato in varî casi da Sutton (40), Robertson (36), Pinney (35), Nowlin (32) ecc.

D'altra parte Montgomery (29) formulò per *Syrbula* (un acridide) uno schema preriduzionale: i cromosomi, inseriti linearmente durante la

sinapsi sarebbero separati dalla 1a divisione (riduttrice) e divisi equazionalmente dalla 2a. Lo stesso schema è ammesso per varî ortotteri da Farmer e Moore (8) e da Davis (6).

Le osservazioni sulla *Syrbula*, ripetute recentemente da Robertson (36), estendono anche a questo caso lo schema preriduzionale proposto da Mc Clung.

Contrariamente a Mc Clung, de Sinéty (39) descrisse nei Fasmidi due divisioni longitudinali senza dare a nessuna di queste valore riduttivo nel senso di Weismann. Gli Schreiner (38) trovano ora che le figure di de Sinéty possono essere ritenute come dimostrative del loro schema di coniugazione longitudinale.

La coniugazione longitudinale è stata descritta in *Gryllus* da Brunelli (3) — i cui dati però richiedono conferma non avendo questo autore esposto se non osservazioni preliminari[1]) — da Otte in *Locusta viridissima* (33) e da Morse (31) che la ritiene probabile in alcune specie di Blatte.

Secondo Morse le due divisioni si compirebbero in senso longitudinale. Il caso di Otte invece si allontana dallo schema preriduzionale degli Schreiner giacchè le divisioni decorrerebbero ambedue trasversalmente, senza mai separare i coniugandi. Due divisioni trasversali, in diverso senso sono state descritte da Wilcox (44) in *Caloptenus femur-rubrum*.

Le osservazioni di Wilcox sono state però contestate recentemente da Nowlin (32) in *Melanoplus* (*Caloptenus*) *bivittatus* che l'A. riconduce allo schema postriduzionale e secondo Mc Clung (apprendo da Nowlin [32] p. 266) anche in *M. femur-rubrum* la 1a divisione è longitudinale.

Per quanto riguarda in modo speciale le questioni relative al cromosoma accessorio rimando al lavoro di Davis (6) nel quale si può trovare del resto una revisione completa della vasta bibliografia relativa alla spermatogenesi degli ortotteri, e al recente lavoro di Buchner (4) che ha studiato diffusamente il comportamento degli eterocromosomi, sia nella spermatogenesi sia nell' ovogenesi di varie specie.

II. Materiale e tecnica.

Il materiale da me usato per queste ricerche proviene dai dintorni di Cagliari, e più specialmente dall' Orto botanico di questa Università, ed è stato raccolto in varie epoche dell'anno.

---

[1]) Nel lavoro definitivo, del quale vengo a conoscenza durante la corregione delle bozze, il Brunelli (Mem. della R. Accad. dei Lincei (5) Vol 7: La spermatogenesi di *Gryllus desertus* Pall.) ammette una coniugazione lineare e riconduce le divisioni di maturazione allo schema preriduzionale, sec. Montgomery.

I testicoli di *Pamphagus*, che si presentano come due grosse masse, della lunghezza di circa 2 cm e della grossezza di $^1/_2$ cm, venivano suddivisi in numerosi pezzi e fissati per un tempo più o meno lungo — generalmente circa 24 ore — nel liquido di Flemming.

Questo fissatore, in seguito a numerose prove con la maggior parte dei liquidi usati odiernamente — come quelli di Hermann, Tellyeniski, Gilson ecc. — fu usato quasi esclusivamente, come quello che permette di ottenere i risultati più soddisfacenti.

Per la colorazione delle sezioni (tagliate queste di spessore vario tra 4 e 10—12 μ) fu usata l'*Ematossilina ferrica*, sia col metodo di Heidenhain, sia con quello di Benda. Buoni risultati ho ottenuto anche facendo seguire, come indica de Sinéty, alla colorazione con l'*Ematossilina ferrica* una leggera colorazione col cristalviolett.

Ebbi in fine a mia disposizione alcuni bellissimi preparati del Prof. Giglio-Tos, fissati col liquido di Hermann, e colorati in vario modo, col Magenta, il Cristalviolett e il Neutralroth (usato questo in modo speciale, assieme all' acido fenico).

Alcune osservazioni furono fatte su preparati dilacerati, a fresco, in soluzione fisiologica o trattati con acido acetico e Carminio, secondo Schneider.

III. Periodo di Moltiplicazione.

I testicoli di *Pamphagus* non differiscono in alcun modo da quelli degli Acrididi già descritti. Essi sono costituiti di numerosi follicoli, disposti radialmente attorno al condotto escretore, nel quale sboccano, e rivestiti da una sottile membrana connettiva nella quale si trova sparso, a grossi granuli, un pigmento di caratteristico colore gialliccio. Per quanto riguarda la distribuzione delle varie generazioni cellulari nei follicoli, mi riferisco completamente alla chiara rappresentazione fattane ultimamente da Davis (6): L'evoluzione delle cellule si compie a cominciare dall' estremità a fondo cieco del follicolo e, a mano a mano, gli elementi delle varie generazioni, raggruppati entro le cisti, vengono spinti verso l'estremità opposta. Nella porzione terminale si possono spesso osservare gli spermatogonî della prima generazione riuniti a rosetta, come comunemente si osserva negli insetti e circondati da cellule connettivali. Questi spermatogonî sono grosse cellule piriformi, assai larghe alla base e convergenti con l'estremità affilata verso il centro della cisti dove sono riunite dagli avanzi del fuso, talora tra loro, talora ad una grossa cellula a contorni irregolari corrispondente evidentemente alla cellula apicale. (Davis, 6.)

Il nucleo degli spermatogonî, adossato alla parete basale, allungata, della cellula, si allunga parallelamente a questa (fig. 1). I suoi contorni, come spesso si osserva negli spermatogonî, sono irregolarissimi, così da dare al nucleo une aspetto lobiforme caratteristico, spesso assai più accentuato che nel caso rappresentato dalla fig. 1 e sempre assai più evidente negli spermatogonî delle generazioni successive.

In questi nuclei polimorfi la cromatina, alla stato di riposo, appare suddivisa in granuli minutissimi e sparsa in tutto il territorio nucleare, ammassandosi tuttavia qua e là in piccoli gruppi, oltre che in uno o due gruppi più grandi, di forma irregolare e variabile, ma costantemente presenti. È assai probabile, sebbene io non l'abbia potuto determinare con certezza, che questi rappresentino lo stato di riposo del cromosoma accessorio.

Le cellule della stessa cisti si trovano sempre tutte allo stesso stadio e si moltiplicano rapidamente.

I fenomeni nucleari, durante la cariocinesi, procedono nel modo più schematico. All' inizio della profase la cromatina si riunisce a formare un sottile filamento, probabilmente unico (è in realtà assai difficile determinare questo con assoluta certezza) il quale si presenta da prima aggrovigliatissimo, per assumere poi una disposizione più regolare, a mano a mano che, contraendosi, si accorcia diventando più spesso.

La fig. 2 mostra la suddivisione trasversale dello spirema nel quale tuttavia non è ancora visibile alcuna traccia di scissione longitudinale. Questa non è infatti evidente che in uno stadio più avanzato, quale appare dalla fig. 3.

La divisione longitudinale in seguito scompare e i cromosomi acquistano il loro aspetto compatto definitivo, disponendosi regolarmente nella piastra equatoriale (fig. 4).

Solo tra i cromosomi definitivamente costituiti, e mai prima, mi è stato possibile distinguere in modo chiaro il cromosoma accessorio. Esso non presenta notevoli differenze sia di forma che di grandezza dai cromosomi ordinarî, ed è solo possibile distinguerlo in certi casi sia per la relativa compattezza che conserva all' inizio del dissolvimento dei cromosomi normali, sia per i contorni leggermente frastagliati, come è il caso della piastra equatoriale rappresentata dalla fig. 4.

I miei dati sul comportamento della sostanza cromatica durante le fasi di riposo degli spermatogonî sono in contradizione coi fatti recentemente descritti da Otte (33) in *Locusta viridissima.*

Secondo Otte i cromosomi, durante le fasi di riposo delle varie generazioni spermatogoniali non perderebbero mai la loro individualità, dissolvendosi solo leggermente nei loro granuli costituenti, ciascuno in una deter-

minata vescichetta, così da potere considerare, secondo l'espressione di Otte, ogni cromosoma come un nucleo a sè.

Lo stesso fatto era già stato descritto da Sutton in *Brachystola magna* (40, 41) e Brunelli (3), confermandolo per *Gryllus*, dice di ritenerlo assai commune negli ortotteri. Recentemente Pinney (35) in *Phrynotettix magnus* trovò ugualmente che i cromosomi si dissolvono ciascuno in una determinata vescichetta limitata da una delicata membrana, per riprendere poi la loro individualità in modo caratteristico.

Io stesso ho osservato che nelle teleofasi iniziali i cromosomi presentano spesso un aspetto simile a quello figurato da Otte. Essi appaiono infatti suddivisi in granuli (fig. 9, 10, 11) e circondati da una sottile zona chiara. Questo però è in generale assai poco evidente in materiale ben fissato e, d'altra parte, non si tratta nel caso presente che dell' inizio di una completa diffusione della cromatina, quale si osserva nei nuclei in riposo già descritti.

La messa al fuso e la divisione procedono come per una cariocinesi comune e vengono allontanate le due metà longitudinali dei cromosomi, già separate durante la profase.

Quando i cromosomi comuni sono già distanziati, il cromosoma accessorio non è ancora completamente diviso: sino ad un periodo molto avanzato della metafase i due cromosomi figli rimangono uniti ad una estremità (fig. 6 e 7). In seguito il cromosoma accessorio si osserva sempre alquanto distaccato dalla massa degli altri cromosomi, come mostra la fig. 8, nella quale tutti gli elementi sono presenti.

Gli spermatogonî della 2a generazione occupano una zona più o meno vasta del follicolo, addossati strettamente gli uni agli altri e riuniti fra loro dagli avanzi del fuso. Essi non differiscono dagli spermatogonî primaî se non nella forma, ora irregolarmente poligonale per le compressioni reciproche, e per le dimensioni.

È notevole specialmente la riduzione della quantità di citoplasma, così scarso talvolta da fare apparire l'intera spermatocisti come piena di sostanza nucleare. Nelle generazioni successive la riduzione delle dimensioni degli spermatogonî procede in modo abbastanza sensibile, sia per il citoplasma, sia per il nucleo e i cromosomi che appaiono nelle cellule delle ultime generazioni assai più esili che nelle prime.

Mc Clung (24) ritiene al contrario che la diminuzione delle dimensioni interessi semplicemente il citoplasma: "They (the spermatogonia) divide rapidly and continuously until they become much decreased in size and almost the entire cell is nucleus. The cytoplasma is reduced to a

minimum but the nucleus at least so far as the chromosome are concerned has not been much altered" (24, p. 206).

Mc Clung esprime poi l'opinione, da me condivisa, che il numero delle generazioni di spermatogonî sia, per ogni specie, costante, e ritiene che la riduzione del citoplasma, per un processo di autoregolazione, non possa andare oltre un certo limite. Il fatto di questa riduzione deve così considerarsi come un fenomeno speciale, legato ad intime modificazioni che si compiono nelle cellule a traverso le varie generazioni, escludendo la possibilità che ammette Davis (6) del procedere delle divisioni prima che sia compiuto l'accrescimento normale.

Nelle piastre equatoriali delle varie generazioni di spermatogonî di *Pamphagus*, si contano 19 cromosomi e cioè 18 normali + 1 accessorio.

La constatazione di questo numero che io ritengo certo, data la grande quantità di casi da me osservati e le precauzioni prese per eliminare ogni causa di errore, sia con sezioni sufficientemente spesse per avere la certezza di osservare cellule intere, sia con opportune osservazioni a fresco, non è priva di interesse, data la grande importanza teorica che da Mc Clung, e dai suoi allievi è stata attribuita al fatto di trovare con notevole costanza, negli spermatociti degli Acrididi, 23 cromosomi.

Tuttavia, alla costanza di questo numero nell' intera famiglia non mancano le eccezioni alle quali deve ora aggiungersi il caso di *Pamphagus*. Talune di queste eccezioni sono forse realmente da considerarsi come apparenti. Così, come riferisce Robertson (36), McClung troverebbe che in *Stenobotrus* i cromosomi appaiono solo in numero di 21 per la fusione di due di essi in un cromosoma multiplo. (D'altre parte Davis (6) conta in *Stenobotrus curtipennis* solo 17 cromosomi). È da escludersi completamente, per il caso da me studiato, la possibilità di un' associazione di elementi.

L'eccezione presentata da *Syrbula acuticornis* secondo i dati di Montgomery (29), che conta 20 cromosomi, è ora dimostrata falsa da Robertson (36) che ne conta 23 in *Syrbula admirabiis* e *S. fusca-vittata* ritenendo il numero dato da Montgomery »piuttosto dovuto ad erronea interpretazione che ad una differenza specifica«.

Più importante è l'eccezione presentata dalla subfamiglia delle *Tettigidae* dove si contano (Robertson) 13 cromosomi. A questo riguardo Robertson (36 p. 276) osserva che, per la grande differenza morfologica che esiste fra le *Tettigidae* e gli altri Acrididi, »it seems more reasonable that they should be considered a family by themselves, in rank equal with the Locustidae, Grillidae and Acrididae, than a subfamily of the last group«.

Solo lo studio di altre specie di *Pamphagidae* potrà rivelare il valore dell' eccezione notata in questa specie: evidentemente, in ogni modo, la generalizzazione di Mc Clung, che ritiene essere »caratteri di uguale importanza per distinguere la famiglia degli Acrididi sia i 23 cromosomi, sia le antenne brevi (24), è da considerarsi come assai prematura, dato il numero relativamente limitato di osservazioni.

Riguardo ai cromosomi degli spermatogonî è necessario rammentare la grande importanza che è stata attribuita ai loro rapporti reciproci di forma e di dimensioni.

Questi cromosomi infatti presentano sempre rapporti reciproci costanti, così da poterli distinguere in coppie di due uguali, distinte le une dalle altre per variazioni spesso graduali e costanti. Questo fatto, osservato prima da Montgomery e Sutton negli insetti, è considerato ora come generale in seguito a molte osservazioni compiute sia negli animali che nei vegetali (v. Häcker (20) p. 40 e seg.). Secondo le teorie più diffuse i due componenti uguali di ciascuna coppia, considerati l'uno di origine paterna e l'altro di origine materna, si associerebbero poi durante la sinapsi per venire separati dalle divisioni di maturazione.

Negli ortotteri la distinzione delle coppie di cromosomi uguali si presenta spesso in modo assolutamente schematico: negli spermatogonî di *Pamphagus* il fatto non è notevolmente evidente, ma appare tuttavia dall' osservazione assai più chiaramente che non possa essere rappresentato dal disegno.

È possibile sempre distinguere in modo chiaro 3 coppie di cromosomi grandi, di dimensioni decrescenti, due di medî e due di piccoli, i cui rapporti reciproci si trovano costanti nelle varie generazioni spermatogoniali e quindi negli spermatociti.

Non mi è stato possibile determinare con certezza il numero esatto delle divisioni degli spermatogonî. Ho incidentalmente espresso più sopra l'opinione di Mc Clung che ritiene questo numero costante per ogni specie. Questo fatto, già dimostrato da Sutton in *Brachystola*, dove dal numero degli spermatociti è possibile determinare il numero esatto — otto — di divisioni, è stato poi ammesso in varî casi, e recentemente Pantel e de Sinéty (34) lo hanno dimostrato in *Notonecta glauca*.

IV. Periodo di accrescimento.

Durante la teleofase dell' ultima generazione spermatogoniale i cromosomi perdono da prima la loro compattezza presentando sempre una certa orientazione caratteristica, quale appare nella fig. 12; e rapidamente

poi la cromatina si diffonde in tutto il nucleo mentre il cromosoma accessorio rimane sempre ben distinto da questo e generalmente addossato alla membrana nucleare. Esso appare spesso come un corpo compatto, ma, spingendo alquanto la differenziazione col metodo di Heidenhain è possibile vederlo costituito di grossi granuli fortemente cromatici: in tale stato si presenta sempre durante il primo periodo dell' accrescimento.

L'inizio dell' accrescimento degli spermatociti è caratterizzato da un vero stato di riposo della cromatina che si presenta in granuli più o meno grossi, sparsi tra le maglie di un fitto reticolo acromatico o riuniti a formare piccoli gruppi.

Si possono facilmente distinguere questi nuclei in riposo dai nuclei degli spermatogonî nello stesso stadio, sia per le dimensioni molto inferiori e per la forma (conservando sempre i nuclei degli spermatociti una forma regolare rotonda o leggermente ovale) sia per il modo di aggrupparsi dei granuli cromatici che non formano mai negli spermatociti le grosse masse caratteristiche dei nuclei spermatogoniali. Assai rapidamente, negli spermatociti, i granuli si uniscono a formare piccole catenelle, sparse nel modo più irregolare nel nucleo, che si rendono poi a mano a mano più distinte ed evidenti, mentre nello stesso tempo procede l'accrescimento sia del nucleo sia del citoplasma che, come ho fatto notare, si trova in quantità assai scarsa negli ultimi spermatogonî.

Il citoplasma comincia a presentarsi ben diverso da quello degli spermatogonî, dove appare poco ricco di granuli e uniforme. Come è poi più evidente negli stadî ulteriori il citoplasma degli spermatociti, nel modo caratteristico già ripetutamente notato negli ortotteri, mostra una specie di struttura reticolare a grosse maglie spesso ben distinte, tra le quali stanno immersi in quantità rilevante e sempre crescente i mitocondrî. Ma la descrizione di questi sarà da me completamente trascurata in questo lavoro.

Oltre ai mitocondrî è spesso visibile nel citoplasma una massa, colorata in giallognolo dal Flemming, che rappresenta evidentemente l'avanzo del fuso (»Spindelrestkörper« — »Interzonal body« degli autori).

La forma della cellula, all' inizio dell' accrescimento, è irregolarmente rotonda, o poliedrica se circondata o compressa da altri elementi.

Assai comunemente, negli stadî sopra descritti, si nota alla periferia del nucleo, tra la membrana e la cromatina, una zona chiara, dovuta evidentemente ad una specie di contrazione delle sostanze nucleari: ma tutto lascia credere si tratti di un artefatto: come tali infatti sono state giustamente ritenute da Davis (6) e da altri formazioni consimili.

Le modificazioni del citoplasma durante il periodo di accrescimento,

a parte l'aumento considerevole delle dimensioni (che McClung (23) nei Locustidi ritiene di circa 10 volte il volume iniziale) sono poco importanti. La cellula acquista una forma allungata, ovale, e il nucleo rimane spostato, verso una delle estremità, opposta a quella nella quale si trova lo »Spindelrestkörper«.

Importantissimi sono i fenomeni che si compiono in seno al nucleo, sia per quanto riguarda i cromosomi comuni, per quali adotterò anch'io, secondo la terminologia di Montgomery (30) la denominazione di Autosomi, sia per quanto riguarda il cromosoma accessorio, Monosoma, dei quali parlerò, per maggiore chiarezza, separatamente.

Autosomi.

È solo per ragioni di esposizione che si parla qui di cromosomi; in realtà io debbo esprimere la convinzione che in questo periodo dell'evoluzione degli spermatociti, non esiste nel nucleo nessuna traccia dei cromosomi spermatogoniali. Uno studio accurato dei fenomeni che precedono la formazione dello spirema mi ha convinto in modo chiaro doversi escludere, nel caso da me studiato, una persistenza dei cromosomi spermatogoniali durante le prime fasi dell' accrescimento quale è stata descritta dagli Schreiner (37, 38) in *Tomopteris* e in *Salamandra* e in varî casi da Grégoire.

Immediatamente dopo lo stadio già descritto, durante il quale i granuli di cromatina cominciano a riunirsi in piccoli filamenti, procede rapidamente la formazione dello spirema. Scompaiono i piccoli gruppi di granuli cromatici e va sempre più chiaramente individualizzandosi un sottile filamento costituito di granuli irregolarmente disposti su una sola serie.

Lo spirema si presenta da prima intrecciato e contorto nel modo più indecifrabile; poi segue un decorso più regolare e lo si vede formare intrecci più complessi in varie parti, come nella fig. 15, per distendersi infine in tutto il nucleo con una certa regolarità (fig. 16). Le varie anse del filamento sono riunite fra di loro e alla membrana nucleare da sottili fili di linina.

Si tratta veramente come sostengono (per dire solo degli ortotteri) Farmer e Moore e de Sinéty, di un filamento unico? Io sono stato assai dubbioso nell' interpretazione di questo fatto e, come anche Mc Clung (23) osserva nel caso dei Locustidi è veramente assai difficile poterlo determinare con certezza.

La maggior parte degli autori descrive negli ortotteri la formazione di uno spirema costituito di filamenti distinti già in numero pari a quello dei cromosomi spermatogoniali.

Sono assai interessanti a tal proposito le osservazioni compiute da DAVIS in varî ortotteri e specialmente in *Chortophaga viridifasciata*. Questo autore osserva che, subito dopo lo stadio di riposo del nucleo a cromatina sparsa in sottili granuli, l'intera massa si divide in parti più o meno definite, disposte in modo determinato, presentando cioè la stessa orientazione dei cromosomi spermatogoniali durante la teleofase. Da ciascuna di queste masse prende origine poi un filamento molto circonvoluto che rappresenta un cromosoma, giachè il numero di queste parti, pur non avendolo determinato con certezza, egli lo ritiene »undoubtedly approximately that of the autosomes of the spermatogonia«.

Le figure date da DAVIS sono senza dubbio di una grande nitidezza: tuttavia, sebbene qualche fatto abbia potuto farmi per un momento arguire la possibilità di fenomeni simili negli spermatociti di *Pamphagus*, più accurate osservazioni mi hanno indotto ad escluderla. La fig. 15 mostra uno spirema nello stadio sopra indicato, durante il quale il filamento forma nel suo decorso estremamente tortuoso dei gruppi più intricati: l'orientazione di questi è, nel mio caso, assolutamente casuale. In nessun modo, d'altra parte, è possibile osservare, come osserva DAVIS, l'origine separata di varie porzioni.

L'orientamento caratteristico del filamento verso un punto determinato del nucleo, quale si presenta spesso in modo notevolmente evidente negli ortotteri, secondo le osservazioni di numerosi autori, appare negli spermatociti di *Pamphagus* assai poco accentuato, durante gli stadî fin' ora descritti. Si rende invece assai evidente, per conservarsi poi sino ad un periodo molto avanzato dell' individualizzazione dei cromosomi, a mano a mano che, compiuta forse precedentemente la scissione trasversale, procede la divisione longitudinale del filamento.

Per quanto riguarda la formazione del filamento doppio, le mie osservazioni coincidono esattamente con quelle di MC CLUNG, MONTGOMERY, DE SINÉTY, DAVIS, BUCHNER e varî altri che ritengono derivare questo dallo sdoppiamento del filamento unico primitivo, anzichè dall' accollamento longitudinale di filamenti, come tra i numerosi osservatori che studiarono la spermatogenesi degli ortotteri, OTTE ritiene dimostrabile per *Locusta viridissima*.

OTTE descrive all' inizio dell' accrescimento la formazione di filamenti distinti, prima decorrenti in modo irregolare, poi mostrando a 2 a 2 un parallelismo bene evidente, e alla fine unendosi assieme. La pseudoriduzione si compirebbe così per una coniugazione parallela di cromosomi, in modo analogo a quanto è stato descritto in numerosi casi.

Gli Schreiner, che sono oggi i principali sostenitori della ipotesi della coniugazione parallela, ritengono potersi trovare prove di questa anche nelle figure di de Sinéty e de Mc Clung: quest' ultimo si manifesta ad ogni modo esplicitamente contrario ad un tale modo di interpretazione. Le osservazioni recentemente ripetute da Buchner (4) sulla *Locusta* contradicono le conclusioni di Otte relativamente a questo punto. Io ritengo d'altra parte impossibile la critica dell' interpretazione data di varie figure come ad es. quelle di Davis (v. p. *es*: Pl. 3 fig. 38—40) nelle quali appare nel modo più evidente lo sdoppiamento dei granuli costituenti il filamento unico.

Nella fig. 17 io ho cercato di rappresentare uno stadio assai caratteristico che mi sembra dimostrativo per l'interpretazione di questi fenomeni. Lo spirema appare già diviso in vàrie porzioni, il cui numero, sebbene io non abbia potuto con certezza determinarlo, corrisponde probabilmente alla metà di quello dei cromosomi spermatogoniali. I granuli mostrano una più o meno distinta scissione, in alcuni punti già compiuta, in altri appena all' inizio. La scissione si rende poi evidente per l'intera lunghezza del filamento.

In nessuno degli stadî sopra descritti si nota una contrazione della massa cromatica in una regione del nucleo, almeno in preparati ben fissati: certo la contrazione, quando esiste, mostra ben chiaramente la sua origine da una cattiva fissazione, come del resto è già stato ripetutamente notato negli ortotteri da Mc Clung e da altri.

Dopo lo sdoppiamento dei filamenti, le modificazioni che si notano nei nuclei per un periodo assai lungo (come si può arguire dal grande numero di cellule che si trovano nello stesso stadio) sono assai semplici e consistono principalmente in un raccorciamento, seguito naturalmente da ispessimento notevole dei filamenti, i quali conservano sempre una bene evidente orientazione verso il cromosoma accessorio (fig. 18, 19 e seg.). La divisione longitudinale contemporaneamente va a poco a poco obliterandosi e appare sempre meno evidente la costituzione primitiva del filamento. I grossi granuli prima disposti regolarmente sul nastro di linina, suddivisi forse in più minute particelle, diventano ora sempre più compatti e indistinti e formano dei grossi pezzi di varia lunghezza e di spessore considerevole (fig. 22).

Il numero di questi pezzi corrisponde evidentemente alla metà del numero normale di cromosomi e cioè, nel nostro caso, a 9.

Ciascuno di essi ha valore quadruplo.

Noi ritorneremo in seguito sul valore di questi pezzi quadrivalenti e sul fenomeno della riduzione a metà del numero dei cromosomi.

Monosoma.

Il cromosoma accessorio subisce, durante il periodo di accrescimento degli spermatociti, numerose e caratteristiche modificazioni. Durante i primi stadî di riposo del nucleo esso si presenta come una massa di forma generalmente ben definita, ben distinta dal resto della cromatina, suddivisa in grossi granuli.

Più tardi, all' inizio della formazione dello spirema appare assai nitidamente costituito di un filamento disordinatamente intrecciato in una massa che assume le forme più varie (fig. 23, a, b). Raramente lo si trova, come in uno stadio precedente, distinto dal resto della cromatina, ma sempre invece in intima connessione con questa.

La formazione di una specie di spirema da parte del cromosoma accessorio fu già descritta da Mc Clung, da Otte, da Robertson, da Davis. Secondo Otte la forma definitiva, alla fine dell' accrescimento sarebbe acquistata per contrazione successiva del filamento. Io non ho potuto determinare questo con certezza nel caso da me studiato. Negli stadî più avanzati dell' accrescimento è raramente possibile distinguere esattamente la vera costituzione del cromosoma accessorio. Esso si presenta spesso come una massa fioccosa costituita di una sostanza meno colorabile nella quale stanno immersi grossi granuli. In questo periodo la sua forma varia moltissimo: uno degli aspetti più comuni è però quello rappresentato dalla fig. 23 (*f*, *g*.) dove si presenta come una massa allungata, apparentemente divisa in 2 o 3 porzioni, che occupa spesso il nucleo in tutta la sua lunghezza.

Questa massa si contrae poi e acquista aspetto sempre più uniforme: verso di essa convergono i cromosomi normali, spesso con una grandissima regolarità (fig. 23 *h*, *i*). In nessun caso però si nota una connessione tra il cromosoma accessorio e i cromosomi, quale la mostra de Sinéty.

V. Periodo di maturazione.

Le maggiori divergenze tra le opinioni dei varî autori che studiarono la spermatogenesi degli ortotteri riguardano specialmente l'interpretazione di questo periodo — e le divergenze cominciano, naturalmente, sul modo di interpretare la formazione delle tetradi e la costituzione di queste. Secondo Mc Clung, Montgomery, Davis, per non citare che i principali, i cromosomi quadrivalenti che all' inizio del periodo di maturazione si trovano nel nucleo in numero uguale alla metà del numero normale dei cromosomi, risulterebbero costituiti, per il loro modo di interpretare la pseudoriduzione (per coniugazione lineare), di due cromosomi bivalenti riuniti

per una estremità e divisi longitudinalmente. Essi presenterebbero così due scissioni, una trasversale ed una longitudinale, secondo le quali verrebbero separati i cromosomi durante le divisioni di maturazione. I varî tipi ditedradi risulterebbero poi dalla ripiegatura in vario modo delle due metà trasversali a formare anelli e doppî anelli o le altre figure caratteristiche.

Nello stesso modo Otte ritiene avvenga la formazione delle tetradi nel caso da lui descritto (*Locusta*) per ripiegatura del filamento quadruplo. Questo però sarebbe costituito di due parti bivalenti unite longitudinalmente: ambedue le divisioni decorrerebbero invece in senso trasversale.

Secondo de Sinéty al contrario le tetradi derivano in modo analogo a quello descritto in gran numero di animali e di vegetali per semplice scissione longitudinale del filamento quadruplo. Un modo simile di formazione delle tetradi è descritto da Morse (31) il quale ritiene però il filamento quadruplo derivare probabilmente da una coniugazione longitudinale.

La forma della tetrade definitiva varia poi naturalmente secondo il modo di origine, e variano ugualmente le opinioni sul valore delle divisioni.

Così, secondo Montgomery e Davis la forma della tetrade tipica è quella di due cromosomi bivalenti uniti ad una estremità ed intrecciati in vario modo (»inserzione in sovrapposizione« Grégoire, 18) v. Davis fig. 159, 188. Questi vengono separati dalla 1a divisione, riduttiva, e divisi longitudinalmente dalla 2a.

Secondo Sutton, Mc Clung e i suoi allievi al contrario i due cromosomi bivalenti si ripiegano l'uno sull' altro in modo da formare 2 anelli giustapposti (inserzione in giustapposizione). Questi vengono poi separati l'uno dall' altro durante la 1a divisione, che è così equazionale, mentre la riduzione si opera durante la 2a divisione che separa le 2 metà trasversali di ciascun anello.

Per de Sinéty la tetrade è costituita di due cromosomi bivalenti intrecciati fra loro che vengono separati dalla 1a divisione e divisi longitudinalmente dalla 2a, nessune delle 2 divisioni però essendo considerata come riduttrice.

Le mie osservazioni sugli spermatociti di *Pamphagus*, per quanto riguarda il valore dei pezzi quadrupli e essenzialmente, il modo di formazione della tetrade e il valore delle divisioni di maturazione, coincidono con quelle di de Sinéty, sebbene le mie osservazioni differiscano poi da quelle di questo autore per quanto riguarda la costituzione definitiva della tetrade e coincidano invece con quelle di Mc Clung e dei suoi allievi.

1. Formazione delle tetradi e 1ª divisione di maturazione.

I pezzi quadrivalenti perdono ogni connessione con la membrana nucleare e col cromosoma accessorio e si rendono liberi nella cavità nucleare (fig. 24).

Non mi è stato possibile trovare una qualsiasi prova di una divaricazione di anse bivalenti unite per l'estremità quale la descrivono Montgomery e Davis (v. Davis fig. 46). La struttura quadripartita dei cromosomi non si rende nel mio caso evidente se non in uno stadio più avanzato.

L'inizio della formazione della tetrade è caratterizzato da una prima divisione longitudinale del filamento, alla quale poi segue rapidamente una 2a divisione nello stesso senso.

Nella figura del testo io ho cercato di rappresentare in modo schematico la formazione dei varî tipi di tetradi, quali si compie durante gli stadî rappresentati dalle fig. 26 a 30.

La forma definitiva delle tetradi è, come ho fatto notare, analoga a quella dei varî tipi comunemente noti, a croce, ad anello, ecc. I tipi principali si possono ridurre a due.

Io comincerò dal prendere in esame la forma a croce che è la più semplice.

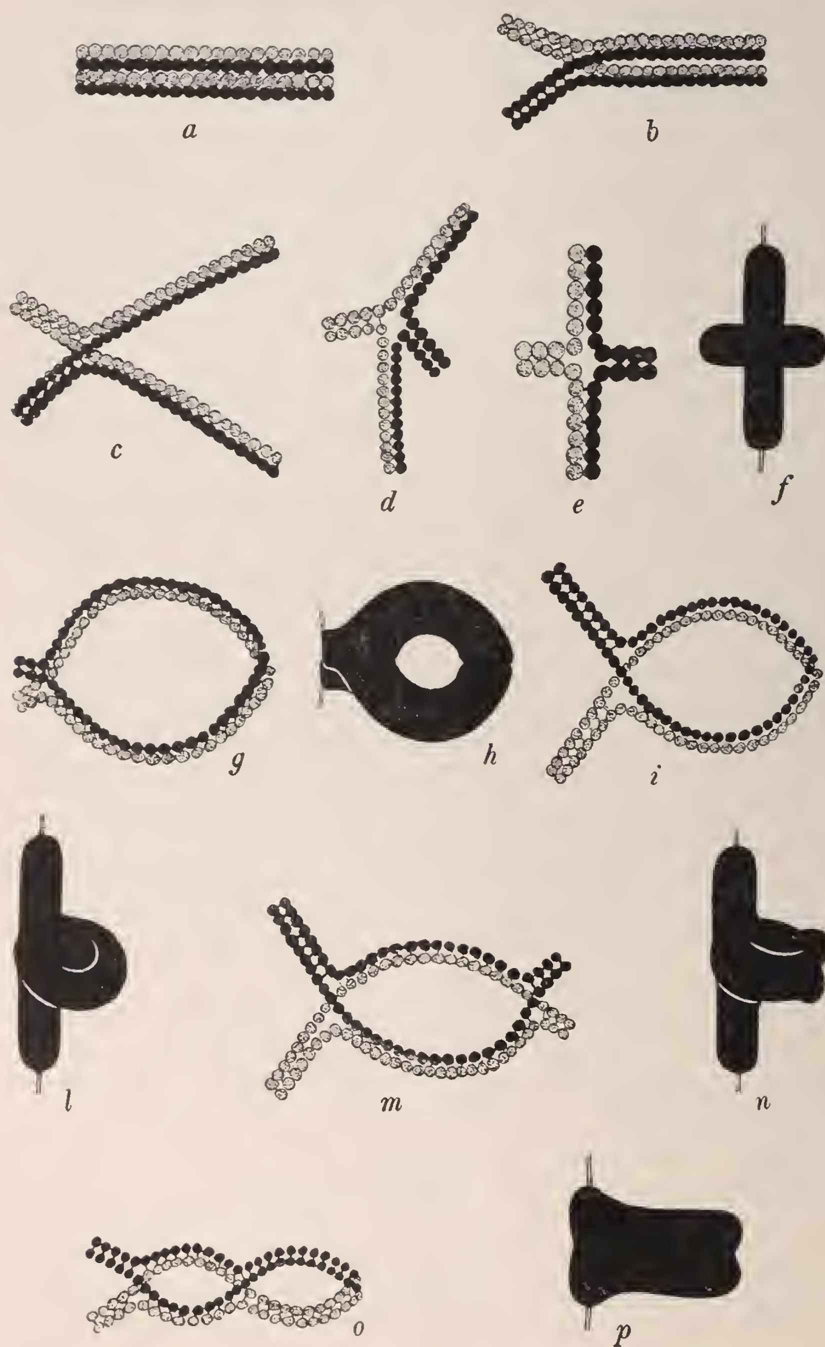
Consideriamo come punto di partenza un cromosoma che si divide due volte longitudinalmente, fig. 1*a*. Le porzioni longitudinali rimangono unite ad una estremità a due a due, per un tratto più o meno lungo. I due tratti di unione, che saranno poi le braccia trasversali della croce, si allontanano l'uno dall'altro in modo da formare una figura caratteristica ad Y. Per tutto il resto della lunghezza i pezzi delle due coppie si allontanano l'uno dall' altro rimanendo uniti ciascuno al tratto corrispondente del l'altra coppia (*b*). L'evoluzione ulteriore della croce è semplicissima e consiste solo in un graduale distendimento e in una contrazione fino ad acquistare l'aspetto compatto definitivo (*c*, *d*, *e*, *f*).

Le dimensioni possono variare grandemente anche da una cellula all' altra: in ogni spermatocito sono però sempre presenti tre forme a croce di dimensioni decrescenti. La croce è, delle tetradi, quella che raggiunge per la prima la sua costituzione definitiva.

Il 2o tipo di tetradi è dato dalla forma ad anello e tutte le varie altre forme possono essere facilmente ricondotte a questa.

Nel caso dell' anello i pezzi rimangono riuniti a due a due ad ambedue le estremità e si allontanano poi più o meno formando un anello circolare od ovale. I tratti di unione sono visibili sin dall' inizio giacchè si allontanano subito l'uno dall' altro (fig. 25 e 26). Essi possono essere presenti

Fig. 1.



ad una sola o ad ambedue le estremità e si originano così forme a racchetta (*g*, *h*, *i*, *l*) e a doppia racchetta (*m*, *n*) di dimensioni varie.

Una forma caratteristica e assai comune negli ortotteri è quella ad 8 (*o*, *p*) che non è se non una varietà della forma *m*, come è facile vedere dalla figura (v. anche fig. 28).

In alcuni casi la forma ad 8 può essere solo apparente e dovuta ad una torsione dell' anello o della doppia racchetta comune (Fig. 29*a*, *b*).

Le tetradi già definitivamente costituite, nello stadio rappresentato dalle fig. 28—30, subiscono quindi una semplice contrazione per la quale la loro costituzione appare sempre meno evidente e finalmente acquistano l'aspetto definitivo compatto, nel quale tuttavia è sempre facile riconoscere la forma essenziale. Durante questo tempo la membrana nucleare scompare e si inizia la divisione.

Monosoma.

L'evoluzione del cromosoma accesssorio durante il periodo preparatorio della prima divisione è, quale la mostra la fig. 31, semplicissima. All'inizio della formazione delle tetradi lo vediamo a poco a poco assumere un aspetto compatto, e lo si può scorgere costituito di un unico pezzo variamente intrecciato, il quale in seguito si raccorcia sino ad acquistare la forma definitiva, quasi regolarmente rettangolare, passando a traverso stadî caratteristici.

La forma ad U, già notata in varî casi, non è da considerarsi che come un punto di passaggio. Otte osserva al contrario che la forma ad U è definitiva, negli spermatociti di *Locusta* e, rimanendo mascherata durante la 1a divisione riappare poi durante l'intercinesi; dalla 2a divisione vengono separate le due branche dell' U per cui si ha evidentemente una divisione trasversale del cromosoma accessorio.

Davis osserva al contrario che le due branche della forma ad U che egli vede sin dall' inizio della formazione delle tetradi negli spermatociti di *Dissosteira carolina* (v. tav. XVI fig. 46) sono già il risultato di una divisione longitudinale. Mc Clung, contrariamente ai dati di Otte ha dimostrato ultimamente che in *Xiphidium fasciatum* (25), dove il cromosoma accessorio presenta appunto durante la cariocinesi una caratteristica forma ad U, la divisione di questo si compie longitudinalmente. Nel caso di *Pamphagus* il modo di formazione del cromosoma accesssorio e la sua forma definitiva non lasciano dubbio sul suo modo di dividersi. Anche durante la profase I, come Mc Clung osserva in *Xiphidium* (v. anche Buchner fig. 44) l'inizio della divisione longitudinale, pur non essendo mai completamente evidente, è qualche volta abbastanza chiaro.

* * *

Per quanto riguarda la 1a divisione le mie osservazioni coincidono esattamente con quelle di Mc Clung: le figure di *Pamphagus* sono in questo stadio assai chiare e non lasciano alcun dubbio sul modo di interpretarle.

Le tetradi si dispongono al fuso in modo che il piano equatoriale coincide con la linea di unione delle due metà giustapposte, e si dividono secondo questa linea, così che vengono separate due metà longitudinali.

La semplice osservazione delle figure è sufficiente, meglio di qualsiasi descrizione, a dare la prova di questo fatto. Io credo del resto inutile insistere su questo punto, relativamente al quale mi riferisco completamente alle chiare rappresentazioni fattene da Mc Clung e da Robertson.

Le figure di quest' ultimo hanno poi una notevole importanza, data la grande disparità che si nota tra le sue osservazioni e quelle di Montgomery (29) su oggetti identici (*Syrbula*).

Nei cromosomi figli, all'inizio della metafase si rendono di nuovo visibili le due metà longitudinali che si allontanano l'una dall' altra rimanendo unite per una estremità, così che passano ai due poli cromosomi a forma di V con le aperture dirette l'una verso l'altra.

La costituzione dei cromosomi durante la teleofase è mostrata dalla fig. 38.

Il cromosoma accessorio, come è il caso generale, passa indiviso ad uno degli spermatociti II.

Non appena le tetradi sono disposte nella piastra equatoriale esso rapidamente si porta ad un polo della cellula (fig. 32, 33) dove rimane estraneo al fuso o solo unito a questo mediante sottili fibre.

All'inizio della metafase (fig. 35) si può quasi sempre distinguere in esso chiaramente la divisione longitudinale che si rende poi evidentissima durante la teleofase (fig. 38). I cromosomi della teleofase si riuniscono a formare un ammasso nel quale è difficile distinguerli esattamente l'uno dall'altro, e in questo stadio rimangono sino alla completa divisione della cellula, per disgiungersi poi di nuovo all' inizio della II divisione.

2. Seconda divisione di maturazione.

Subito dopo la 1a divisione gli spermatociti di II ordine si preparano nuovamente a dividersi.

Una questione interessante si presenta ora, relativamente all'esistenza di un periodo di »Intercinesi«, caratterizzato in alcuni casi, come è noto, da uno stato di ricostituzione più o meno completa del nucleo.

Negli ortotteri si nota generalmente un passaggio diretto dei cromosomi dalla teleofase I alla profase II come hanno descritto de Sinéty (*Phasmidae*), Mc Clung (*Locustidae*) Montgomery (*Syrbula*) e altri. D'altra

parte Mc Clung descrive in vaî casi (*Hesperotettix*, *Xiphidium*, ecc.) una specie di inizio di dissolvimento dei cromosomi che si mostrano suddivisi in granuli mentre il cromosoma accessorio conserva la sua compattezza; fenomeni simili notano Davis ed altri in vaî casi. Otte descrive in *Locusta* un' intercinesi durante la quale il nucleo entra in un vero stato di riposo: la ricostituzione dei cromosomi II avverrebbe poi, seconde questo autore, in modo caratteristico, analogo al modo di formazione dei cromosomi I.

In *Pamphagus* io ho potuto determinare in modo certo, nel caso generale, il passaggio diretto dei cromosomi dalla teleofase I alla profase II, senza attraversare uno stato di dissolvimento. Qualche caso da me osservato (come quello della fig. 40) io debbo considerarlo come teratologico dato che non ho mai potuto seguire la ricostituzione normale dei cromosomi.

In tali condizioni ho potuto in un solo caso vedere il cromosoma accessorio già sdoppiato e conservante la sua compattezza. In altri casi — fig. 41 — i cromosomi, senza perdere per nulla la loro compattezza, divengono più lunghi e sottili e presentano contorni alquanto irregolari: questi casi sono assai comuni ed io ho ritenuto lungamente che essi rappresentassero il fatto normale. Tuttavia, dopo un esame più completo e accurato ho potuto convincermi che anche questo fenomeno, spinto talvolta agli estremi, sino a diventare i cromosomi sottilissimi, quasi filiformi, non è normale, e rappresenta evidentemente un arresto del processo maturativo. Assai comunemente, infatti, cellule in tali stadî mostrano traccie evidenti di alterazione.

Normalmente i cromosomi, riuniti durante la teleofase I nel modo rappresentato dalla fig. 39, all' inizio della profase II si dispongono al fuso come appare dalla fig. 42, e cioè perpendicolarmente all' asse di questo: l'inserzione ha luogo all' estremità libera dei cromosomi i quali si dividono poi nel punto di unione delle due metà univalenti, già visibile sino dalla metafase I. È appena necessario accennare come queste metà univalenti, dato il modo di formazione delle tetradi, precedentemente descritto, rappresentino 2 porzioni longitudinali del pezzo tetravalente iniziale.

La metà degli spermatociti II possiede, come abbiamo visto, il cromosoma accessorio.

Sin dall' inizio della profase, spesso le due metà longitudinali di questo si allontanano rimanendo unite ad una estremità. In questo stato persiste lungamente e la separazione completa delle due parti (come abbiamo visto avvenire negli spermatogonî) non ha luogo se non durante uno stadio abbastanza avanzato della metafase.

Durante la teleofase il cromosoma accessorio si presenta sempre fuori del fuso, unito ad alcune fibre esterne a questo. I cromosomi normali,

durante l'anafase si riuniscono tutti in un ammasso indecifrabile e quindi comincia in modo normale la ricostituzione del nucleo.

I cromosomi subiscono prima un leggero sgretolamento e in seguito la cromatina si dispone in sottili filamenti allungati, raggruppati a formare una specie di spirema che a poco a poco si dissolve (fig. 46 a 50).

Durante questi stadî il cromosoma accessorio acquista di nuovo l'aspetto fioccoso caratteristico del periodo di accrescimento. Quando la cromatina si diffonde in minuti granuli in tutto il nucleo (fig. 50) il cromosoma accessorio si concentra di nuovo a formare un grosso corpo allungato e compatto, nel quale stadio permane poi lungamente durante il periodo di formazione dello spermatozoo. Gli spermatidî contenenti il cromosoma accessorio non variano in nessun modo dagli altri nei quali questo manca.

Durante il periodo di ricostituzione del nucleo si individualizza a poco a poco il paranucleo (Nebenkern) nel modo già descritto altrove (15).

Lo studio della trasformazione dello spermatide in spermatozoo è stato da me completamente trascurato, dati gli accurati studî recentemente compiuti in proposito da Davis e da Otte. Il semplice esame dei miei preparati mi ha convinto che in questo caso i fenomeni procedeno in modo verosimilmente identico a quello già descritto.

Generalità sulla riduzione cromatica.

Le recenti mirabili sintesi di Fick (9), Meves (27), Haecker (20), Trinci (42) sullo stato attuale delle cognizioni acquisite relativamente al problema della riduzione cromatica, rendono ora superfluo da parte mia il difficile compito di una revisione completa dei numerosi fatti studiati nei due regni e delle disparate ipotesi formulate dai varî autori.

Come è noto, dopo che Korschelt e Heider ebbero fissati (1903) i due tipi di maturazione, degli schemi eumitotici e pseudomitotici (preriduzionali e postriduzionali) una importante ipotesi è venuta delineandosi intorno alla quale fervono ancora le discussioni, e cioè l'ipotesi della coniugazione dei cromosomi, secondo la quale la pseudoriduzione si compirebbe, avanti la 1a divisione, per una sorta di copulazione di cromosomi a due a due, considerati questi l'uno di origine paterna e l'altro di origine materna.

Le divisioni di maturazione seguirebbero poi, l'una separando i coniugandi (divisione riduttiva), l'altra dividendoli equazionalmente.

Relativamente al momento in cui si compirebbe la coniugazione viene data da taluni grande importanza ad una fase speciale del periodo di accrescimento descritta per la prima volta da Moore nei Selaci (fase di sinapsi)

caratterizzata da una contrazione della massa cromatica in una parte del nucleo. È noto come da taluni (Mc Clung, Meves, Jansens, Duesberg) questo stadio venga ritenuto insignificante o a dirittura artificiale e dovuto ai fissatori.

Il dibattito più importante ha luogo intorno al modo di effettuarsi della coniugazione.

Da un lato un gran numero di autori, specialmente americani (Montgomery, Farmer e Moore, Blackmann, Davis, ecc.) sostiene l'ipotesi di una coniugazione lineare (end to end) secondo la quale i cromosomi durante l'accrescimento (o già prima, durante la teleofase dell' ultima divisione spermatogoniale) verrebbero saldati due a due per una estremità. D'altra parte l'ipotesi di una coniugazione parallela quale la descrisse per primo von Winiwarter (46) nei mammiferi è oggidì sostenuta da numerosi autori, sia zoologi che botanici.

Grégoire e gli Schreiner, indipendemente l'uno dagli altri, sono giunti a ritenere come generalizzabile a tutti i casi uno schema di maturazione »eteroomeotipico« (Grégoire 18) secondo il quale i cromosomi, riuniti longitudinalmente durante la sinapsi, venebbero poi separati dalla 1a divisione che sarebbe così da considerarsi come riduzionale e divisi equazionalmente dalla 2a. Tanto Grégoire come gli Schreiner sono d'accordo nel ritenere i fatti rappresentati come dimostrativi di una coniugazione lineare (end to end) semplicemente come stadî susseguenti alla coniugazione longitudinale, durante i quali i coniugandi si separerebbero rimanendo iuniti ad una estremità.

Gli Schreiner sono evidentemente condotti all' esclusione della possibilità della coniugazione lineare, per l'importanza teorica da essi attribuita alla coniugazione longitudinale. Secondo gli Schreiner infatti la coniugazione si compirebbe per una unione tra i singoli granuli omologhi dei cromosomi, possibile quindi solo nel caso di un accollamento longitudinale.

Una intima unione tra i singoli granuli costituenti i cromosomi è negata da Grégoire (17, 18) il quale ritiene che i filamenti associati conservino durante il decorso della coniugazione la loro perfetta individualità.

Tra i partigiani della coniugazione parallela K. Bonnevie (1, 2), Vejdovski (43) divergono dallo schema degli Schreiner per quanto riguarda le divisioni di maturazione che, nei casi descritti da questi autori, sarebbero ambedue equazionali.

Contro l'ipotesi della coniugazione dei cromosomi si sono schierati in questi ultimi tempi vaiî autori. Tra questi Goldschmidt (16) e Fick (9, 10) la ritengono per lo meno non sufficientemente provata, Meves (27,

28) e Duesberg (7) la negano in modo assoluto. Non è mio scopo riprendere qui la discussione sul valore dei fatti portati dai varî autori a sostegno della ipotesi della coniugazione: discussione del resto quanto altra mai ardua e difficile, data specialmente la grande diversità dei fatti osservati dai diversi ricercatori spesso anche sugli stessi oggetti. È noto a tal proposito per es. come Fick, che ha avuto occasione di studiare i migliori preparati degli Schreiner, sia giunto ad una interpretazione diversa da quella di questi autori.

D'altra parte, per quanto riguarda il valore delle figure di coniugazione, relativamente alla riduzione, giustamente osserva Fick (9) come alcune figure di divisione longitudinale profasica nelle cellule somatiche mostrano »ähnliche Konjugationen von Chromatinprimitivfibrillen, zu dicken Chromatinbalken auch ohne Zahlenreduktion«. Nello stesso modo Meves osserva figure simili nella profase di cinesi somatiche in *Salamandra*, ritenendo tutta l'ipotesi della coniugazione basata sulla falsa interpretazione delle figure di sdoppiamento dello spirema. Questa ipotesi è grandemente convalidata da tutti i numerosi casi descritti di coniugazione lineare, nei quali i filamenti doppî sono originati per sdoppiamento dei filamenti unici primitivi. È interessante notare in oltre come recentemente Kühn (21) mostra nelle cellule sessuali partenogenetiche dei Cladoceri figure simili a quelle date come dimostrative della coniugazione senza che tuttavia esse possano, naturalmente, avere relazione con una riduzione del numero dei cromosomi.

I fatti da me osservati negli spermatociti di *Pamphagus* mi hanno indotto a ritenere molto probabile la formazione del filamento doppio per sdoppiamento, ed io debbo quindi escludere, almeno nel caso da me studiato, la possibilità di una coniugazione parallela.

D'altra parte, come chiaramente esprimono Meves e Duesberg, la base della questione è evidentemente la persistenza dei cromosomi durante il periodo di accrescimento degli spermatociti[1]), e gli Schreiner ritengono difatti di poter seguire i cromosomi dall ultima divisione spermatogoniale alla coniugazione.

Meves contesta vivamente agli Schreiner la possibilità di seguire i cromosomi durante gli stadî di riposo, sia in *Tomopteris*, sia, in base a personali osservazioni, in *Salamandra* (26).

---

[1]) Nello stesso senso si esprime Grégoire (19, pag. 391): »Les filaments minces qui se conjuguent représentent bien chacun un chromosome somatique: on y voit chacun d'eux provenir d'une bande alvéolaire: cette conception s'impose, il est vrai, comme la seule explication possible des fénomènes hétérotypiques«.

Nel caso da me studiato, come ho già fatto notare, deve escludersi in modo assoluto la possibilità di riconoscere i cromosomi nei nuclei degli spermatociti durante gli stadî di riposo. Non è possibile quindi parlare che di cromatina e linina come sostanze sparse nel territorio nucleare e sedi di reazioni chimiche tali da modificare continuamente, assieme alla loro costituzione, il loro particolare modo di aggregazione.

Da questo punto di vista il fatto della riduzione del numero dei cromosomi non può essere interpretato evidentemente in modo diverso da quello espresso da Meves: All'inizio delle divisioni di maturazione la massa di cromatina si presenta in un numero di unità tattiche (cromosomi) uguale alla metà del numero dei cromosomi somatici.

Tuttavia è certo da considerarsi, allo stesso modo di Grégoire, come »leggiera« l'opinione di Henneguy (v. Duesberg p. 93) che ritiene sia stato attribuito al fatto della riduzione numerica dei cromosomi un' importanza troppo grande, mentre solo del fatto si deve tener conto.

L'origine di esso deve evidentemente ricercarsi in reazioni della più alta importanza che si compiono in seno al nucleo prima della costituzione dei cromosomi. Le mie vedute a tal riguardo, coincidono esattamente con quelle già espresse dal Prof. Giglio-Tos in varî lavori, e alle quali io accennerò ora brevemente.

* * *

Secondo Giglio-Tos (13) la riproduzione consiste sulla facoltà che hanno talune cellule dell' organismo pluricellulare di compiere un ciclo chiuso, cioè di ritornare dopo una serie di trasformazioni chimiche speciali ad una costituzione chimica uguale o simile a quella dell' uovo da cui esse hanno preso origine, facoltà di cui non godono le cellule somatiche le quali perciò seguiranno a loro volta una serie di trasformazioni che potrà essere più o meno lunga, ma avrà ad ogni modo un termine con la morte, e costituirà perciò una curva di evoluzione aperta. Con questa interpretazione l'eredità diventa un fenomeno semplice e naturale, poichè se si ammette che il soma di un organismo qualsiasi sia la manifestazione di quelle qualità che sono potenzialmente insite nel germe, non si può negare che, se un germe uguale si riforma, questo, contenendo in sè le stesse potenzialità, non debba, in condizioni uguali, esplicarle nello stesso modo, e quindi dar origine ad un individuo uguale o simile al progenitore.

Jaeger, Nussbaum e Weismann ricorrono, per dare spiegazione del l'eredità organica, alla continuità del plasma germinativo. Ma mentre in questo teorie l'eredità è legata intimamente ad una fissità e ad una immutabilità troppo rigida dell' idioplasma che prelude la via a possibili nuove variazioni, nell' interpretazione di Giglio-Tos l'idioplasma va soggetto

ad una continua trasformazione chimica di cui le varie cariocinesi che intercedono tra l'uovo e le cellule da cui prendono origine i nuovi gameti, segnano le tappe. Così che le cellule genetiche derivanti dall'uovo, lungi dal mantenere immutato il loro idioplasma subirebbero invece successivi cambiamenti che le allontanerebbero sempre più dalla costituzione primitiva dell' uovo da cui in origine sono derivate.

Giunte queste cellule genetiche alla fine del loro ciclo, due cose sono possibili: o le particelle che le costituiscono sono capaci di rigenerarsi tutte, o pure no.

È necessario premettere qui che questa rigenerazione di particelle esige l'assimilazione, fenomeno fondamentale di ogni manifestazione della vita, e che, secondo Giglio-Tos, viene interpretato su reazioni chimiche comuni anche alla materia bruta volendo egli con questa interpretazione ricondurre appunto il fenomeno dell' assimilazione nella cerchia dei più comuni fenomeni chimici della sostanza organica non vivente.

Nessuno prima di lui ammetteva che il fenomeno vitale potesse aver sede nelle molecole stesse e tanto Naegeli, quanto Spencer, Altmann e Weismann, ritenevano necessaria l'ipotesi di entità speciali di ordine superiore alle molecole, alle quali attribuivano, senza darne ragione, la facoltà di assimilare. Fu Giglio-Tos (11) il primo che con un esempio tolto dai composti organici più semplici, dimostrò che i fenomeni veramente fondamentali e caratteristici della vita, l'assimilazione e la riproduzione, si possono ripetere nella molecole dell' acido acetico, mediante una breve serie di tre reazioni per cui la molecola primitiva di acido acetico, aggiungendo a sè nuovi atomi, si trasforma in una molecola di metiletilchetone (assimilazione) che poi per ossidazione si sdoppia in altre due molecole di acido acetico (riproduzione).

Recentemente, e quindi parecchî anni dopo Giglio-Tos, anche Häcker e Fick (v. 14) con altri esempî analoghi e sullo stesso principio, pensarono, senza conoscere l'interpretazione di Giglio-Tos, che l'assimilazione e la riproduzione potevano spiegarsi in tal guisa, e questa coincidenza è certo indizio che tale interpretazione ha molta probabilità di essere esatta (14).

Ora se questa interpretazione noi estendiamo a tutte le numerose molecole costituenti un germe qualsiasi A e indichiamo queste molecole con *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, ecc. la cui natura imprime al germe quella certa costituzione chimica complessiva che noi sogliamo indicare vagamente con la designazione di idioplasma, dopo quella serie di trasformazioni che intercedono tra l'inizio dello sviluppo del germe e la formazione delle ultime cellule genetiche che ne derivarono, le molecole *a*, *b*, *c*, *d*, *e* si saranno trasformate nelle molecole *m*, *n*, *o*, *p*, *q*. . . che noi supponiano tali da scindersi in 2*a*, 2*b*, 2*c*, 2*d*,

2e . . , precisamente come, nell' esempio citato, la molecola di metiletilchetone, derivata da quella di acido acetico, si scinde in due molecole di questo stesso composto.

È evidente allora che, se questo avviene per tutte le molecole componenti l'idioplasma, dopo lo sdoppiamento di esse questo si troverà di nuovo a possedere la stessa costituzione chimica che aveva nel germe che ha dato origine all' organismo di cui parliamo, cioè avrà nella sua speciale evoluzione compito l'intero ciclo e sarà ritornato al suo punto di partenza pronto e capace a ricominciare un altro ciclo uguale al primo. E poichè la rigenerazione delle sue molecole, come abbiamo supposto, si è fatta per intero, il nuovo germe sarà rigenerato in tutta la sua integrità, con tutte le molecole che formavano il germe primitivo, ed il suo ciclo di sviluppo potrà compiersi senza l'intervento di alcuna altra cellula. Si avrebbe in tal caso un esempio di vera riproduzione asessuale o di partenogenesi.

E siccome la rigenerazione dell' idioplasma si ottiene mediante uno sdoppiamento di molecole, ne viene di naturale conseguenza che a questo sdoppiamento terrà dietro, secondo l'interpretazione di Giglio-Tos (12) una cariocinesi, i prodotti della quale saranno due cellule di uguale grandezza e capaci ambedue di rigenerare da se stesse un organismo o pure; nel caso che la cellula che si divide sia molto ricca di deutoplasma, a due cellule di differente grandezza di cui una rappresenterà l'uovo partenogenetico, e l'altra il suo globulo polare, il quale in questo caso sarà naturalmente unico.

La rigenerazione totale e integrale del germe per effetto della sola assimilazione è dunque un fenomeno possibile, e non ne mancano di fatto gli esempî in natura. Ma se è possibile non si può tuttavia dire che sia facile poichè essa richiede condizioni speciali di nutrizione nell' ambiente, essendo indispensabile, affinchè la rigenerazione integrale di tutte le molecole si possa fare, che la cellula trovi nel mezzo in cui vive sostanze nutrienti determinate e fisse nella loro composizione chimica, quali precisamente si esigono per condurre le molecole a quella tale struttura che le rende sdoppiabili in due altre molecole uguali a quelle del germe primitivo, senza di che evidentemente la riproduzione non potrebbe aver luogo.

Ma poichè non sempre, e anzi difficilmente assai, queste condizioni si troveranno realizzate in natura, conviene esaminare per quale altro mezzo la rigenerazione del germe sia tuttavia possibile, senza della quale naturalmente la riproduzione non potrebbe aver luogo.

Secondo l'interpretazione di Giglio-Tos questa rigenerazione avverrebbe per mezzo di un fenomeno chimico semplicissimo che egli chiama

l'addizione biomolecolare perchè consisterebbe nella semplice addizione di due molecole della sostanza vivente.

Si è detto sopra che, secondo Giglio-Tos, l'assimilazione non consiste in altro che nell' aggiunta di atomi alla molecola vivente per opera di comuni reazioni chimiche, così che questa, mentre al suo inizio risulta formata di un certo numero di atomi, dopo l'assimilazione e per effetto di questa giunge ad averne un numero doppio, il che le permette di sdoppiarsi in due molecole uguali alla primitiva, cioè di riprodursi.

Ma fa d'uopo anche notare come non basti che gli atomi si raddoppino in numero perchè la rigenerazione della molecola primitiva si possa compiere. È necessario ancora che abbiano tra loro una posizione tale che, nel dividersi della molecola, dopo compiuta l'assimilazione, essi si dispongano nelle due molecole figlie risultanti come erano disposti nella molecola madre da cui sono derivate.

È noto di fatto a tutti come la natura e la qualità di un composto non sono date solamente dal numero degli atomi che compongono la molecola, ma anche e sopratutto dalla disposizione reciproca che questi atomi hanno.

Sono queste difficoltà di raggiungere la voluta disposizione degli atomi nelle molecole che, secondo Giglio-Tos, vengono superate passo passo in quella serie di trasformazioni segnata da corrispondenti cariocinesi, che le cellule genetiche subiscono, dall' uovo ad arrivare fino alla fase di maturazione; serie di trasformazioni che Giglio-Tos designò col nome di »periodo di preparazione sessuale« la quale si chiude con la fase di »maturazione sessuale«.

Giglio-Tos adunque suppone che quei determinati gruppi atomici che dopo le trasformazioni del periodo di preparazione sessuale mancano a talune molecole e che queste non possono trovare nell' ambiente tra le solite sostanze nutrienti, possano benissimo essere presentati da altre molecole viventi nella stessa cellula, così che l'addizione di queste molecole verrebbe a porgere ad una di esse le condizioni indispensabili per la sua rigenerazione a spese dell' altra molecola che ad esse si è addizionata. Ma è evidente che in tal caso una delle molecole viventi scompare a totale benefizio dell'altra che a spese di essa può rigenerarsi.

Ciò premesso concretiamo meglio le cose.

In un germe qualsiasi esistono 2 biomolecole, l'una con una determinata struttura che segneremo con ♂ proveniente dal gamete maschile, e formata di 20 atomi; l'altra proveniente dal gamete femminile, con una struttura differente che segneremo con ♀ e formata di 25 atomi.

A incominciare dalla 1a segmentazione e nelle divisioni successive che costituiscono il periodo di preparazione sessuale fino alla maturazione, le

due sorta di biomolecole vanno via via trasformandosi e acquistando per effetto dell' assimilazione nuovi atomi, così che, giunte all'inizio della profase di maturazione, quella maschile risulta costituita di 34 atomi e quella femminile di 46.

È evidente che, se in questo istante la biomolecola maschile potesse ancora aggiungere 6 atomi a se stessa, e con quella tale disposizione precisa che si richiede per lo sdoppiamento in 2 biomolecole con la struttura iniziale ♂, e alla sua volta quella femminile potesse fare altrettanto aggiungendo a se stessa 4 atomi con la voluta disposizione, la 1a arrivando per tal modo ad avere 40 atomi, cioè il doppio di 20, e la 2a a 50, cioè il doppio di 25, ambedue potrebbero rigenerarsi contemporaneamente. Ma se ciò, come dicemmo, non è possibile, è chiaro che ammettendo che con la struttura assunta da queste biomolecole quando hanno rispettivamente 34 e 46 atomi, esse si possano addizionare l'una all' altra, la somma dei loro atomi (34 + 46) diventa quadrupla di quella della biomolecola primitiva maschile (34 + 46 = 80 = 4 × 20) e in tal caso la biomolecola complessiva può, mediante due sdoppiamenti successivi, rigenerare la biomolocola primitiva maschile con 20 atomi e con la struttura ♂.

In questo fenomeno chimico i 46 atomi della biomolecola femminile evidentemente non scompaiono, ma scompare la biomolecola femminile come individualità propria, perchè gli atomi che la formavano passano a far parte delle biomolecole maschili che ne risultano. La materia per se stessa sussiste sempre, ma è rappresentata da altre molecole, cioè i suoi atomi hanno preso una disposizione diversa, caratteristica della biomolecola maschile.

Se ora noi supponiamo che lo stesso fenomeno si compia fra tutte le biomolecole che sono in parte di origine maschile e in parte di origine femminile, si comprende di leggieri come, dopo l'addizione biomolecolare la sostanza che forma la cellula sia sempre la medesima per quanto riguarda la quantità di atomi, ma naturalmente tutte le biomolecole femminili come individualità proprie siano scomparse. Così che la cellula che prima era costituita in parte di biomolecole di origine maschile, in parte di corrispondenti biomolecole di origine femminile, dopo l'addizione biomolecolare sarà esclusivamente formata di biomolecole uguali a quella maschile solamente, e mancheranno per compiere la sua costituzione integrale tutte quelle di natura femminile.

Portiamo ora le nostre conclusioni sui cromosomi.

Poichè questi sono, come sappiamo, per metà di origine maschile e per metà di origine femminile (esclusion fatta degli eterocromosomi) e poichè indiscutibilmente essi sono formati di molecole, se si ammette come

è giuocoforza ammettere che quelli femminili sieno di costituzione differente da quelli maschili, l'addizione fra le biomolecole che li compongono porterà, nel caso finora considerato, alla scomparsa dei cromosomi femminili a vantaggio di quelli maschili; ossia la sostanza che formava quelli femminili si trasformerà in sostanza propria dei maschili. I cromosomi femminili scompariranno dunque, come individualità, come entità, ma la materia che li forma rimarrà trasformata in cromosomi di natura maschile. Per tal modo si rigenereranno solamente questi ultimi e la cellula non possederà più altri cromosomi che quelli maschili. E poichè erano gli uni e gli altri in numero uguale, si capisce che dopo l'addizione biomolecolare che fa scomparire tutti i cromosomi femminili, il numero normale dei cromosomi resti ridotto a metà.

Ma siccome per effetto dell' assimilazione ogni cromosomo si era quasi raddoppiato e la sostanza di essi è quindi diventata quasi doppia di quello che era in origine, e non scompare ma solo si trasforma chimicamente, venendo essa concentrata in un numero di cromosomi metà di quanti erano prima, essa sarà per ognuno di essi quadrupla. Quindi ognuno dei cromosomi non sarà bivalente, come nelle cariocinesi normali, ma tetravalente. Così è spiegata la formazione delle tetradi, le quali hanno la loro origine primitiva nell' addizione biomolecolare.

Se ora noi supponiamo che quanto si è detto per la rigenerazione delle biomolecole e dei cromosomi maschili avvenga pure per la rigenerazione delle biomolecole femminili, l'addizione biomolecolare avvenuta al primo inizio della profase, anche nell' oocito produrrà la formazione di cromosomi quadrupli, di tetradi, ma questi saranno tutti femminili, poichè per le ragioni già esposte i cromosomi maschili saranno scomparsi come individui ed i loro atomi saranno passati a far parte di quelli femminili.

L'interpretazione di Giglio-Tos è naturalmente basata su di una ipotesi, cioè su di un fenomeno, l'addizione biomolecolare, che sfugge alla constatazione diretta nelle condizioni presenti dell' indagine microscopica; ma è un' ipotesi che presuppone, non un fenomeno esorbitante dai comuni fenomeni della materia, ma una reazione chimica semplicissima che noi sappiamo avvenire nella materia bruta e che perciò non possiamo negare alla sostanza vivente.

L'interpretazione di Giglio-Tos ha il merito di collegare insieme molti fatti fondamentali delle vita e di ricondurli ad una causa unica. Per essa si spiegano di fatto:

1) La sessualità, di cui nessuno finora seppe trovare una causa plausibile. Ed invero è evidente che se per giungere alla rigenerazione delle biomolecole maschili è necessaria una serie di trasformazioni chimiche speciali

che caratterizzano il periodo di preparazione maschile, per arrivare a quella delle biomolecole femminili che sono differenti dalle maschili occorrerà una serie di trasformaziani differenti, ossia un periodo di preparazione femminile. Il che precisamente noi sappiamo essere caratteristico dei 2 sessi.

2) La riduzione a metà del numero dei cromosomi, riduzione di cui non si comprenderebbe la ragione con un' altra interpretazione, poichè è evidente che se questa riduzione avesse semplicemente per effetto di ridurre a metà la quantità di cromatina questa si compirebbe con le due divisioni successive caratteristiche della maturazione, e sarebbe assolutamente inutile e superfluo che la riduzione a metà del numero normale di cromosomi si facesse all' inizio della profase I, mentre quella della cromatina si compie all' atto della 2a divisione.

3) La formazione delle tetradi, perchè, dato e concesso che l'addizione biomolecolare sia avvenuta, i 4 cromosomi della tetrade devono derivare da divisioni di un unico cromosoma primitivo, cosa che non avverrebbe nè si spiegherebbe se i cromosomi non si fondessero, cioè se conservassero la loro individualità primitiva, poichè in tal caso ognuno di essi dovrebbe scindersi in altri due formando così due diadi, come nelle solite cariocinesi somatiche.

4) Le due divisioni successive caratteristiche della maturazione, poichè, mentre con qualsiasi altra interpretazione si può ammettere che i cromosomi maschili e femminili si separino, non si capisce perchè questa separazione non possa avvenire anche senza tutti i fenomeni che accompagnano la profase, mentre che con la ipotesi dell' addizione biomolecolare la cellula, risultando, dopo di questa costituita di 4 sistemi equivalenti di parti uguali, deve dar luogo per l'orientazione di queste parti alla divisione di questi 4 sistemi e quindi a 2 cariocinesi successive — secondo l'interpretazione di questo fenomeno data da Giglio-Tos (12).

5) La necessità della fecondazione. Di fatto con qualsiasi altra interpretazione il fenomeno della fecondazione rimane inesplicabile, mentre che ammettendo la rigenerazione per opera dell' addizione biomolecolare dei cromosomi caratteristici di un solo sesso è chiaro che dopo di essa gli elementi che ne risultano sieno incompleti perchè mancanti dei cromosomi dell' altro sesso. E poichè la potenzialità totale di un germe risulta dalla sua costituzione integrale è bene evidente che, affinchè questa si possa ottenere, è indispensabile che i 2 gameti di cui l'uno contenente solo la parte maschile e l'altro la parte femminile si uniscono insieme onde ricostituire in tutta la sue integrità la struttura e la costituzione del germe primitivo.

6) Devesi inoltre osservare che secondo l'interpretazione di Giglio-Tos i 4 cromosomi di una tetrade sono uguali, il che porta alla conseguenza

che la divisione e la formazione di questa non ha alcuna importanza perchè il risultato è sempre il medesimo, in qualunque direzione si divida il cromosoma unico da cui deriva. In un caso solo si avrebbe una differenza: qualora cioè si potesse realmente verificare che il cromosoma della tetrade si dividesse in senso trasversale. Ma nelle altre interpretazioni, e specialmente in quella oggidì prevalente che i cromosomi dei due sessi si separino semplicemente nei due gameti ne segue sempre, inevitabilmente, che dei 4 gameti che risultano dalle divisioni di maturazione due devono essere differenti dagli altri due.

Per tutte queste ragioni ci pare adunque che la interpretazione di Giglio-Tos, sebbene basata su di un fatto che finora ci sfugge, abbia però tutte le probabilità di essere esatta e di colpire nel vero.

Sommario.

Negli spermatogonî di *Pamphagus marmoratus* (un Acridide) si contano costantemente 19 cromosomi.

Questi variano l'uno dall' altro per forma e per dimensioni, così che si possono distinguere in 9 coppie più uno che, per il suo comportamento, appare essere quello che Mc Clung chiamò »cromosoma accessorio«. — In qualche caso da me osservato di cariocinesi delle cellule follicolari, ho potuto determinare che sulla femmina i cromosomi sono in numero di 20, e cioè 18 più 2, corrispondenti verosimilmente in forma e in grandezza al cromosoma accessorio del maschio. Secondo la classificazione di Wilson (45) quello presente nel *Pamphagus* deve considerarsi come un »eterotropocromosoma«.

Gli spermatogonî si dividono verosimilmente un numero determinato di volte. Durante la teleofase dell' ultima generazione spermatogoniale la cromatina si diffonde completamente nel nucleo, suddivisa in minuti granuli.

Il cromosoma accessorio, conservando la sua forma, appare diviso in granuli.

Nel nucleo si individualizza a poco a poco uno spirema assai tortuoso e irregolare da prima e che poi si regolarizza e presenta una certa orientazione verso un punto della membrana nucleare (generalmente quello dove si trova addossato il cromosoma accessorio).

Lo spirema appare diviso trasversalmente e si inizia la scissione longitudinale del filamento.

I filamanti doppî si contraggono e si inspessiscono, mentre conservano sempre una ben distinta orientazione verso il cromosoma accessorio.

La scissione longitudinale appare alla fine indistinta senza però venire mai completamente obliterata.

Il cromosoma accessorio al principio dell' accrescimento si presenta come un filamento strettamente aggrovigliato. In seguito appare come una massa indecifrabile di forma varia, la quale per contrazione successiva si trasforma poi in un cromosoma compatto il quale acquista alla fine la sua forma definitiva, quasi regolarmente rettangolare.

Non è impossibile distinguere, in qualche caso, durante la profase, un inizio di divisione longitudinale del cromosoma accessorio.

Da ciascun pezzo dello spirema prende origine una tetrade, per una doppia divisione longitudinale e disposizione delle 4 parti in modo da dare origine alla forme caratteristiche a croce, ad anello, a doppio anello, ecc.

Negli spermatociti si trovano sempre tetradi degli stessi tipi, pur presentando spesso variazioni notevoli di aspetto e di dimensioni.

La 1a divisione di maturazione si compie in senso longitudinale, dividendo la tetrade in due parti uguali.

Il cromosoma accessorio passa indiviso in uno degli spermatociti II.

La 2a divisione separa due porzioni longitudinali riunite per una estremità e si deve quindi considerare come longitudinale.

Durante questa divisione vengono separate le due metà longitudinali del cromosoma accessorio già distinte durante la profase I.

Nessune delle due divisioni di maturazione deve considerarsi come riduzionale.

Bibliografia.

1. Bonnevie, K. 1906. Untersuchungen über Keimzellen. I. Beobachtungen an den Keimzellen von Enteroxenos östergreni. Jena. Zeitschr. Bd. XLI.
2. — 1908. Chromosomenstudien. II. Heterotypische Mitose als Reifungscharakter usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. II. Heft 2.
3. Brunelli, G. 1907. Contributo alla conoscenza della spermatogenesi negli Ortotteri. Rendic. della R. Accad. dei Lincei. Vol. XVI. serie 5. fasc. 12.
4. Buchner, P. 1909. Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellforsch. Bd. III. Heft 3.
5. Carnoy, J. B. 1885. La cytodiérèse chez les Arthropodes. La cellule. T. I.
6. Davis, H. S. 1908. Spermatogenesis in Acrididae and Locustidae. Bull. of the Harw. College. Vol. LIII. No. 2.
7. Duesberg, J. 1908. La spermatogenèse chez le rat. Leipzig, Engelmann.
8. Farmer, J. B. and Moore, J. E. S. 1905. On the Maiotic Phase (Reduction divisions) in animals and plants. Quart. Journ. Micr. Sc. Vol. XLVIII.
9. Fick, R. 1906. Vererbungsfragen, Reduktion- und Chromosomenhypot. Bastardregeln. Ergebn. d. Anat. u. Entwickl. Bd. XVI.

10. Fick, R. 1908. Zur Konjugation der Chromosomen. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. Heft 4.
11. Giglio-Tos, E. 1899. Un'interpretazione dell'assimilazione e della riproduzione. Boll. Mus. di Zool. e Anat. Comp. Torino. Vol. XIV. No. 353.
12. — 1900. Les problèmes de la vie. I. partie: La substance vivante et la cytodiérèse. Turin.
13. — 1905. Les problèmes de la vie. III. partie: La fécondation et l'hérédité. Cagliari.
14. — 1907. L'eredità negli organismi e l'interpretazione chimica della vita. »Biologica«. Vol. I. No. 26.
15. — e Granata, L. 1908. I mitocondrî nelle cellule seminali maschili di Pamphagus marmoratus. »Biologica«. Vol. II. No. 4.
16. Goldschmidt, R. 1908. Ist eine parallele Chromosomenkonjugation bewiesen? Arch. f. Zellforsch. Bd. I. Heft 4.
17. Grégoire, V. 1904. La reduction numérique des chromosomes et les cinèses de maturation. La cellule. T. XXI.
18. — 1905. Les résultats acquis sur les cinèses de maturation dans les deux règnes. La cellule. T. XXII.
19. — 1907. La formation des gémini hétérotypiques dans les végétaux. La cellule. T. XXIV.
20. Häcker, V. 1907. Die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger. Erg. u. Fortschr. d. Zool. Bd. I. Heft 1.
21. Kühn, A. 1908. Die Entwicklung der Keimzellen in den parthenogenetischen Generationen der Cladoceren usw. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. Heft 4.
22. Mc Clung, C. E. 1900. The spermatocyte divisions of the Acrididae. Kansas Univ. Quart. Vol. IX.
23. — 1902. The spermatocyte divisions of the Locustidae. Kansas Univ. Sci. Bull. Vol. I.
24. — 1908. Cytology and Taxonomy. Kansas. Univ. Sci. Bull. Vol. IV. No. 7.
25. — 1908. Spermatogenesis of Xiphidium fasciatum. Kansas. Univ. Sci. Bull. Vol. IV. No. 11.
26. Meves, F. 1896. Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von Salamandra maculosa. Arch. f. Mikr. Anat. Bd. XLVIII.
27. — 1907. Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene (Apis mellifica) nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. Arch. f. Mikr. Anat. Bd. LXX.
28. — 1908. Es gibt keine parallele Konjugation der Chromosomen. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. Heft 4.
29. Montgomery, T. H. 1905. The spermatogenesis of Syrbula and Lycosa with general considerations upon Chromosome reduction and the Heterochromosomes. Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia. Vol. LVII.
30. — 1906. Chromosomes in the spermatogenesis of the Hemiptera Heteroptera. Trans. of the Americ. Phil. Soc. Philad. Vol. XXI.
31. Morse, M. 1909. The nuclear components of the sex cells of four species of cockroaches. Arch. f. Zellforsch. Bd. III. Heft 3.
32. Nowlin, N. 1908. The chromosome complex of Melanoplus bivittatus. Kans. Univ. Sci. Bull. Vol. IV. No. 12.
33. Otte, H. 1907. Samenreifung und Samenbildung bei Locusta viridissima. Zool. Jahrb., Anat. u. Ontog. Bd. XXIV. Heft 3.

34. Pantel, J. et de Sinéty, R. 1906. Les cellules de la lignée mâle chez le Notonecta glauca etc. La cellule. T. XXIII.
35. Pinney, E. 1908. Organisation of the Chromosomes in Phrynotettix magnus. Kans. univ. Sci. Bull. Vol. IV. No. 14.
36. Robertson, W. R. B. 1908. The chromosome complex of Syrbula admirabilis. Kans. Univ. Sci. Bull. Vol. IV. No. 13.
37. Schreiner, A. u. K. E. 1906. Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. I. Die Reifung der männlichen Geschlechtszellen von Tomopteris onisciformis. Arch. de Biologie. T. XXII.
38. — 1907. Neue Studien usw. II. Die Reifung der männlichen Geschlechtszellen von Salamandra maculosa, Spinax niger u. Myxine glutinosa. Arch. de Biol. T. XXII.
39. Sinéty, R. (de). 1901. Recherches sur la biologie et l'anatomie des Phasmes. La cellule. T. XIX.
40. Sutton, W. S. 1900. The spermatogonial divisions in Brachystola magna. Kansas Univ. Quart. Vol. IX.
41. — 1902. On the morphology of the chromosome group in Brachystola magna. Biol. Bull. Vol. IV.
42. Trinci, C. 1908. L'evoluzione storica del problema della riduzione cromatica in rapporto all'attuale ipotesi dell'esistenza di un tipo unico e fondamentale di maturazione nei due regni. Arch. di Anat. e Embriologia. Vol. VII. Fasc. I.
43. Vejdowsky, F. 1907. Neue Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung. Königl. Böhm. Gesellsch. d. Wissensch. in Prag.
44. Wilcox, E. V. 1895. Spermatogenesis of Caloptenus femur-rubrum and Cicada Tibicen. Bull. Mus. Comp. Zool. Harward Coll. Vol. 27.
45. Wilson, E. B. 1909. Studies on Chromosomes. IV. The »Accessory« Chromosome in Syromastes and Pyrrochoris with a comparative review of the types of sexual differences of the Chromosome Groups. Journ. of Experim. Zool. Vol. VI. No. 1.
46. v. Winiwarter, H. 1901. Recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des Mammifères (lapin et homme). Arch. de Biol. T. XVII.

Spiegazione delle figure.

Tutte le figure sono state ottenute con l'apocrom. Zeiss imm. omog. 2 mm — ap. num. 1 : 3 — oc. comp. 12 — tubo evag. 175 — con proiezione sul tavolo da lavoro e rappresentano così un ingrandimento di circa 1800 diametri. Tutte le figure sono state ricavate da preparati fissati in liquido di Flemming e colorati con l'Ematossilina ferrica.

Fig. 1. Spermatogonio della 1a generazione, allo stato di riposo.

Fig. 2. Spirema già segmentato trasversalmente.

Fig. 3. Divisione longitudinale dei cromosomi.

Fig. 4. Piastra equatoriole con 19 cromosomi. Il cromosoma accessorio è riconoscibile per i suoi contorni irregolari.

Fig. 5, 6, 7. Figure di divisione.

Fig 8. Aggruppamento dei cromosomi durante la teleofase.

Fig. 9, 10, 11. Teleofasi di spermatogonî di varie generazioni che mostrano la progressiva riduzione delle dimensioni.

Fig. 12. Teleofasi di spermatogonî dell'ultima generazioni. Dopo questo stadio la cromatina si diffonde completamente nel nucleo.

Fig. 13—16. Formazione dello spirema.

Fig. 17. Lo spirema appare già diviso trasversalmente e mostra l'inizio della scissione longitudinale.

Fig. 18, 19. I segmenti, scissi longitudinalmente, presentano una bene evidente orientazione verso i cromosoma accessorio.

Fig. 20, 21, 22. I segmenti, contraendosi, diventano più spessi e la divisione longitudinale appare sempre meno evidente.

Fig. 23. Varî espetti del cromosoma accessorio durante il periodo di accrescimento.

Fig. 24. I segmenti quadrivalenti perdono il loro orientamento e si trovano sparsi irregolarmente nella cavità nucleare.

Fig. 25 a 30. Formazione delle tetradi per due divisioni longitudinali. (V. fig. nel testo.)

Fig. 31. Stadî ulteriori dell'evoluzione del cromosoma accessorio che, per progressiva contrazione, acquista la sua forma definitiva. Nello stadio p. è visibile un accenno alla divisione longitudinale.

Fig. 32, 33. Inizio della 1ª divisione. Il cromosoma accessorio si porta rapidamente ad uno dei poli.

Fig. 34, 35, 36. Divisione delle tetradi. Nella fig. 35 il cromosoma accessorio mostra più evidentemente la scissione longitudinale.

Fig. 37. Metafase avanzata che mostra un certo asincronismo nella divisione delle tetradi.

Fig. 38. Cromosomi durante la teleofase I. Il cromosoma accessorio appare nettamente diviso.

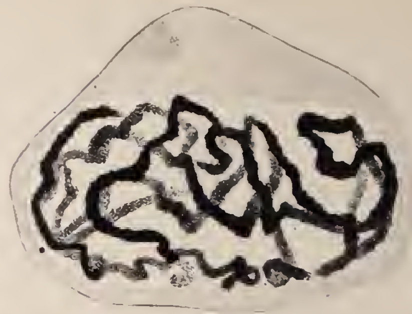
Fig. 39. Aggruppamento dei cromosomi durante la teleofase I.

Fig. 40, 41. Figure di intercinesi.

Fig. 42 a 45. 2ª divisione. La fig. 43 mostra la divisione tardiva del cromosoma accessorio le cui metà longitudinali rimangono lungamente unite ad una estremità. Nella fig. 45 il cromosoma accessorio si mostra alquanto separato dagli altri cromosomi.

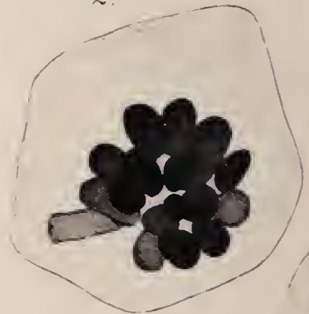
Fig. 46 a 50. Ricostituzione del nucleo.


1

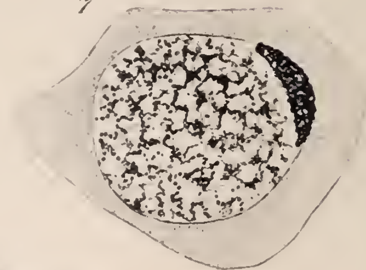

2.

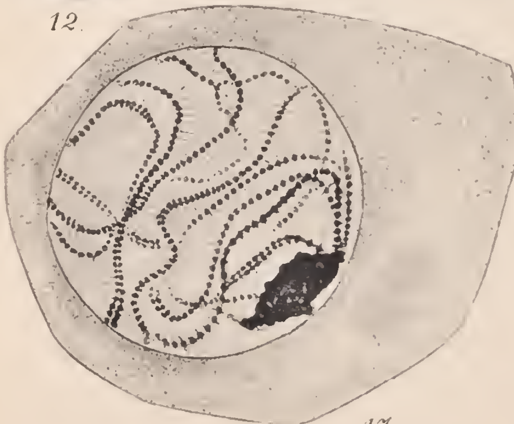

6

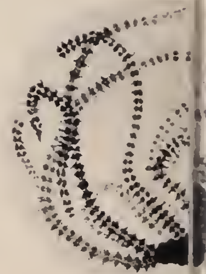

7


8.

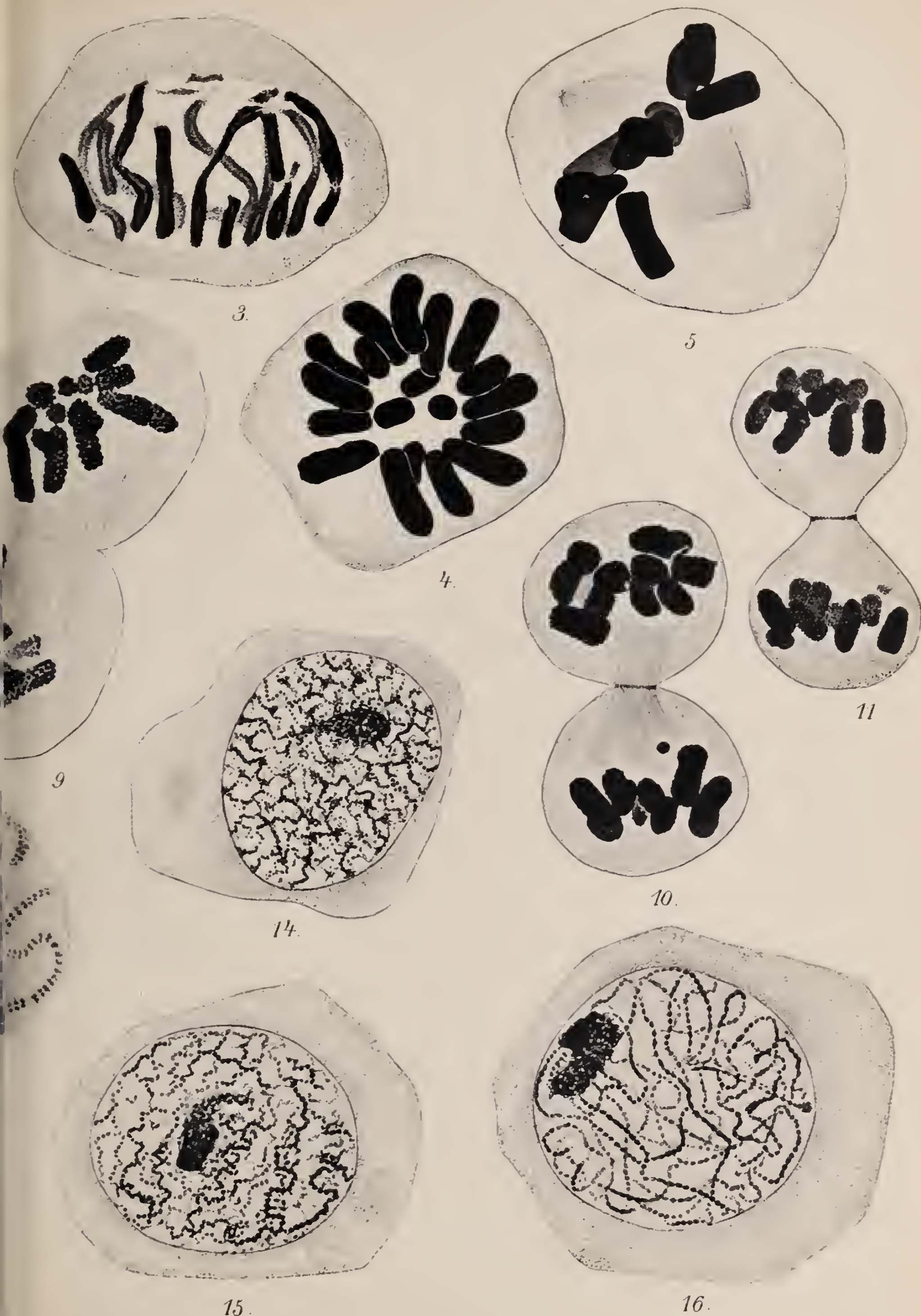

12.


13.


17


19.

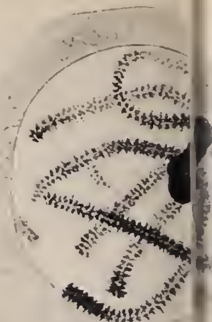

18.



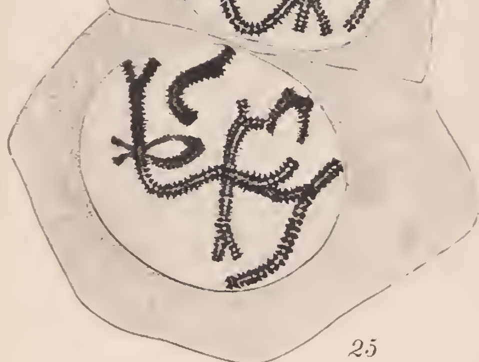
...elmann, Leipzig.
Lichtdruck v. C. G. Röder G.m.b.H. Leipzig.

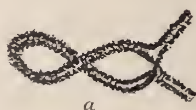

20.


21

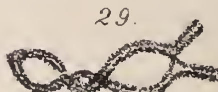


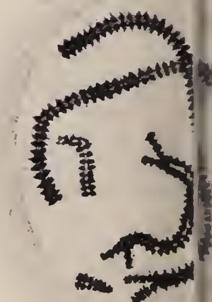



25


a

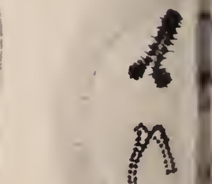
29.

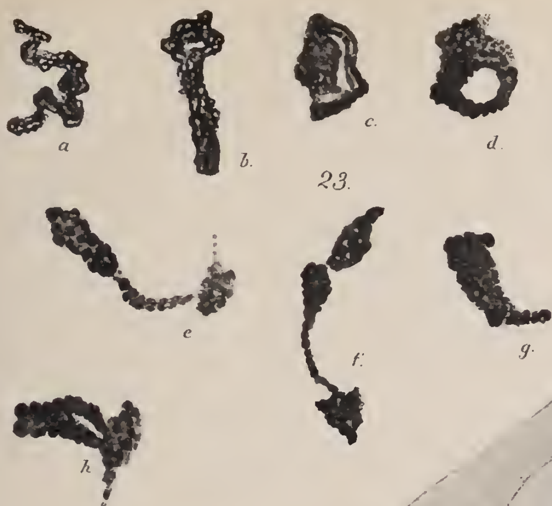

b.


26.

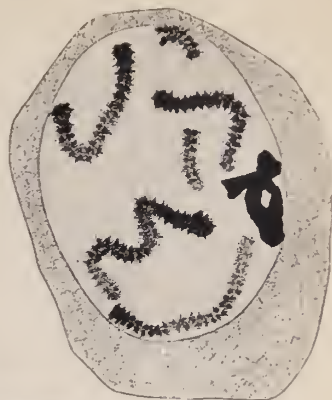

33.


34.

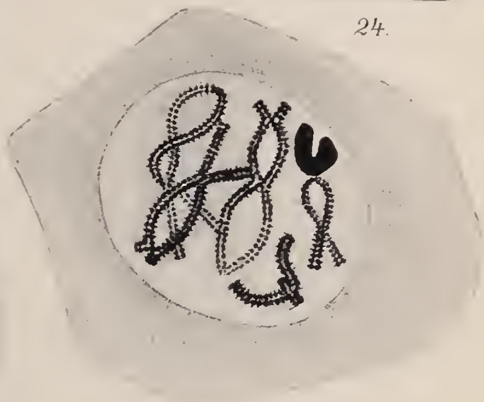




23.



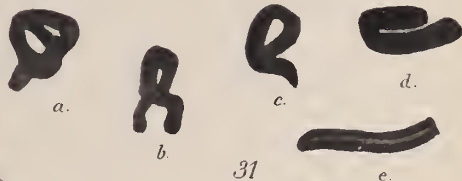
24.



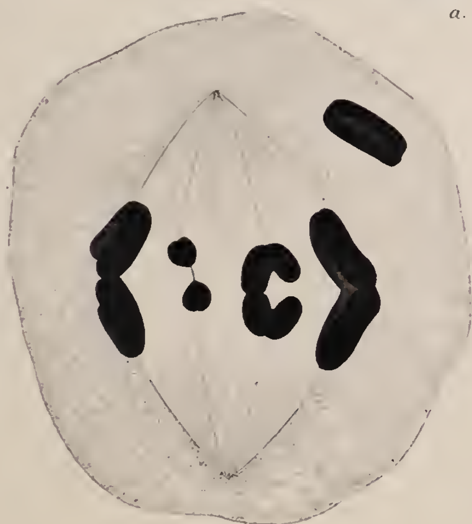
28.



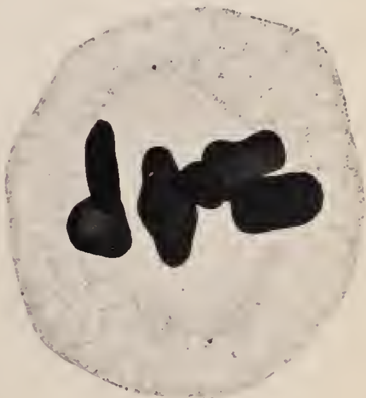
27.



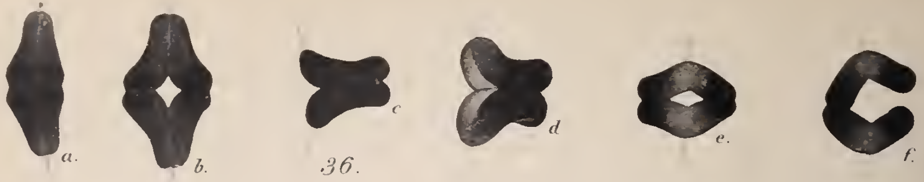
31



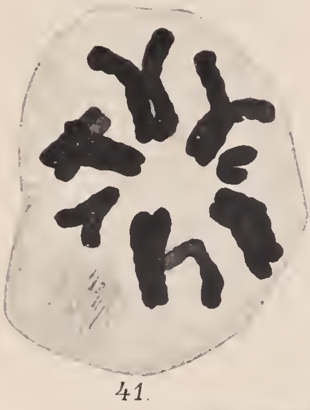
35.



32.



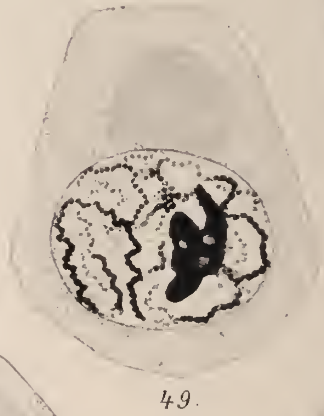
36.


41.



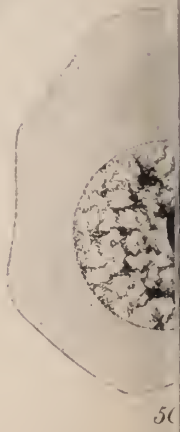

38


42.


49.

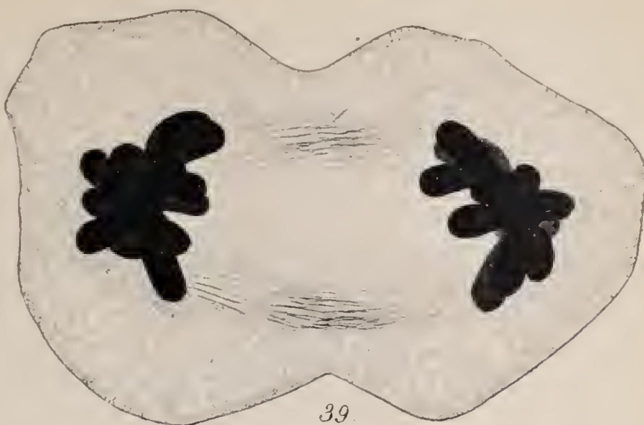

47.


48

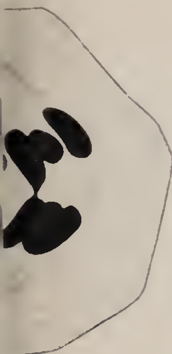

5(



37.

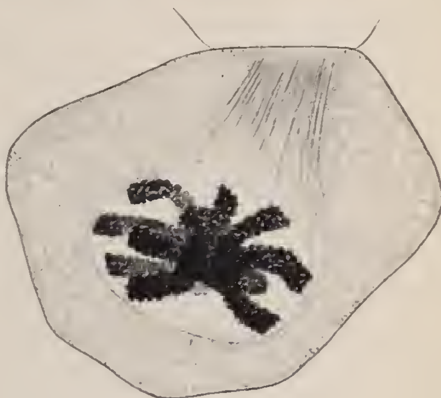


39.





44.



40



54.



46.

gelmann. Leipzig.

Lith. Anst. v. C. G. Röder, G. m. b. H. Leipzig.

Von den Beziehungen zwischen Centriol und Bukettstadium.

Von

Dr. Paul Buchner.

(Zoolog. Institut München.)

Mit 23 Textfiguren.

Das Bukettstadium stellt einen in Ovogenese und Spermatogenese gleich häufigen, aber zur Durchführung der Reifung nicht unerläßlichen Zustand der Geschlechtszellen dar. Sein in die Augen springendes Merkmal ist die deutliche polare Orientierung der einzelnen Komponenten der Zelle. Während das Chromatin der etwas jüngeren Spermato- oder Ovocyte den Kern in allseitig gleicher Weise durchsetzt — ob in Form eines kontinuierlichen Spirems oder den Chromosomen bzw. Chromosomenpaaren entsprechend segmentiert, bleibt meist unsicher — oder auch im Centrum oder an der Peripherie synaptisch verklumpt ist, macht sich Hand in Hand mit dem einsetzenden Wachstum der Geschlechtszellen beider Drüsen unter den Fäden des Spirems oder der sich auflockernden Synapsis eine Tendenz bemerkbar, sich mit der Längsachse nach einem Punkt oder doch wenigstens einer kleinen Haube der Kernmembran einzustellen. Wenn dieser Prozeß der allmählichen Orientierung und der gleichzeitigen Herausarbeitung der Chromosomenschleifen abgeschlossen ist, durchsetzen letztere scharf umrissen in U-Form den Kern und erscheinen mit den beiden freien Enden wie aufgehängt an einer gemeinsamen Stelle der Kernmembran. Die Beziehungen zum Lininnetz sind nun gewöhnlich ganz aufgegeben worden. Die Menge des Plasmas ist in der Gegend des orientierenden Pols meist bedeutend größer als an den andern Punkten des Zelleibes. Während seine übrigen Teile frei oder doch wenigstens arm an Mitochondrien sind, liegen hier dichte Massen dieser Substanz, die auf solche Weise dem Kern wie eine Kappe aufsitzen kann.

Nur soweit sind die Charakteristika dieses Stadiums allgemein anerkannt. Wir sehen in der Folge ab von den Fragen nach der Konstitution der Schleifen und von der Deutung des Längsspalts, der im Verlauf desselben in der Regel — nicht immer — auftritt, als von Dingen, deren Existenz nicht notwendig an das Vorhandensein des Bukettstadiums gebunden ist und wollen hier nur eine Analyse des morphologischen Bildes geben nach Zellgesetzen, die auch sonst in Geschlechtszellen oder im Soma sich als wirksam erweisen und an deren Hand einige Erklärungen, die von andrer Seite gemacht wurden, zurückweisen.

Zu der obigen Schilderung des Bukettstadiums kommt in einer Anzahl von Fällen noch die Beobachtung hinzu, daß mitten in dem Mitochondrienhaufen ein Centriol mit oder ohne ein umhüllendes Centrosoma liegt, wobei es vorkommen kann, daß das Centriol bloß sichtbar wird, wenn ein die verdeckenden Mitochondrien nicht fixierendes oder nicht färbendes Reagens gewählt wurde. Ohne im geringsten Vollständigkeit anzustreben, sei ein Teil dieser Angaben hier zitiert. Für Wirbeltiere beschreiben ein Centriol Eisen (*Batrachoseps*), Heidenhain (*Proteus*), Meves (*Salamandra*), Janssens und Willems (*Alytes*), K. C. Schneider (*Katze*)[1]). Bezüglich der Wirbellosen reihen sich die Untersuchungen an von Wassilieff und Morse an Blattiden, von Meves an *Paludina*, von Wallace an Spinnen. Um einen Fall aus der botanischen Literatur herauszugreifen, verweise ich auf die hübsche *Fucus*-Untersuchung von Yamanouchi. Studiert und vergleicht man die Bilder der Autoren, so erwecken sie durchweg den Eindruck, daß es sich hier um eine richtig beobachtete Lagebeziehung des Centriols zum Kern handelt, die dessen ganzen Zustand der Orientierung bedingt. Es fehlt deshalb auch nicht an Stimmen, die sich dahin aussprechen, daß das Centriol die Ursache der einseitigen Richtung der Schleifen darstellt, allerdings ohne auf eine eingehendere Analyse der Beziehungen desselben zu allen Erscheinungen des Bukettstadiums einzugehen. Da zugleich auf der andern Seite Forscher stehen, die dem Centriol keinerlei Bedeutung bei dem Zustandekommen des Buketts zusprechen, sondern vielmehr von vornherein ihrem Nachweis skeptisch gegenüberstehen und entweder an eine Verwechslung mit Mitochondrienkörnern oder ein rein zufälliges Zusammentreffen der drei Faktoren (Mitochondrienkappe, Schleifenorientierung, Centriol) glauben, scheint eine Prüfung des Für und Wider wohl angebracht. Treffen doch die gegensätzlichsten Meinungen hier zusammen. Denn andre wieder (Goldschmidt, Popoff) glauben wohl an einen ursächlichen Zu-

---

[1]) Schneider bildet hierbei 1902 bereits den 1909 von Winiwarter und Saintmont als Heterochromosom erkannten Körper ab!

sammenhang zwischen Schleifenorientierung und Mitochondrien, ohne jedoch dem Centriol hierbei eine Rolle zuweisen zu wollen. Wieder andre sehen neuerdings wohl ein, daß zwischen Mitochondrien und ähnlichen Bildungen und dem Centriol topographische Gesetzmäßigkeiten bestehen, erklären aber diese letztern in einer allem Bisherigen entgegengesetzten Weise (Vejdovsky).

Wenn wir nun auch die Möglichkeit, ja Wahrscheinlichkeit einräumen wollen, daß manches an der bewußten Stelle beschriebene Körnchen kein Centriol darstellt, so bleibt doch eine Reihe von Fällen, die nach meiner Meinung unanfechtbar sind, in erster Linie solche, an denen das Centriol von einem Centrosoma umhüllt ist, das von den Mitochondrien frei gelassen wird, oder gar diese zu ganz spezifischen Bildungen an seiner Peripherie veranlaßt, und weiterhin die, die eine deutliche Strahlung des Centriols wiedergeben. Besonders in Anbetracht solcher Beispiele erscheint die Äußerung Goldschmidt-Popoffs (1907), »daß mit Bestimmtheit Centrosomen ... erst während der karyokinetischen Teilung auftreten«, etwas zu eng zu sein. In Zellen, in denen eine topographische Beziehung zwischen Centrosoma und Mitochondrien sich nicht gut in Abrede stellen läßt, meinen die beiden Autoren, daß das Zusammentreffen beider Faktoren ein rein zufälliges ist, das sich daraus erklärt, daß eben beide Gebilde mit Vorliebe im plasmareichsten Teile der Zelle liegen oder sich bilden.

Aus dem Bisherigen mag schon ersichtlich gewesen sein, daß ich dem Centriol eine größere Bedeutung im Bukettstadium zuschreiben möchte. Mit den ersten Phasen der polaren Orientierung des Kerngerüstes beginnt eine Reihe von Erscheinungen, die als eine den besondern Umständen der Reifeteilung entsprechend in die Länge gezogene Teilungsvorbereitung anzusehen ist. Während dieser erscheint auch bereits das Teilungsorganell, das Centriol. Es liegt aber nicht untätig in der Zelle, schon die häufig beobachteten Strahlungen sprechen für einen aktiven Zustand, der, wie wir glauben, das Bukettstadium bedingt. Die Äußerungen liegen hierbei auf verschiedenen Gebieten. Das Centriol vermag Körper im Kern und im Plasma anzuziehen und vermag ferner die Kernmembran in seiner Nachbarschaft aufzulösen.

1. Für Zellen, die im Begriff sind, ihre Membran zu lösen, um in die Mitose überzugehen, und deren Chromosomen schon die definitive Form angenommen haben, ist die Tatsache, daß letztere bereits eine gesetzmäßige Lagebeziehung zum Centriol einnehmen, die die Bildung der Äquatorialplatte anstrebt, nichts Außergewöhnliches. Da in solchen Fällen auch die Fasern der Centralspindel im Kernbläschen schon ausgebildet sind, leiten diese Bilder unmittelbar zur Mitose über (Textfig. 2). Aber

auch schon in sehr frühen Stadien gelangt, wenn auch seltener, diese richtende Kraft zum Ausdruck. Es sei dies durch Textfig. 1 illustriert, die sich auf Polyspermie von *Fucus* bezieht. Vier Centriolen liegen an diametral entgegengesetzten Punkten der Kernmembran. Eine deutliche Strahlung weist auf ihren tätigen Zustand hin, der bewirkt hat, daß entsprechend den 4 Punkten der nun noch fädige chromatische Inhalt sich in ebensoviele Haufen getrennt und den Centralkörperchen zugewendet hat. Die Nucleolen zeigen sich hierbei unbeeinflußt. Das nächste Stadium, in dem die achromatische Substanz sich, entsprechend den drei Centralkörpern in drei Strahlenbündel umgeordnet hat, und die inzwischen ausgebildeten Chromosomen in die Mitte genommen hat, haben wir schon berührt.

Handelt es sich auch hier noch um Teilungsvorbereitungen, so ist diese in dem folgenden Fall völlig auszuschließen (Textfig. 3). Er hat

Fig. 1.

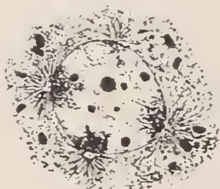
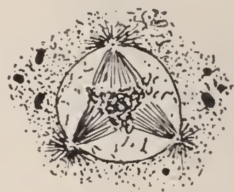


Fig. 2.



Polyspermie bei *Fucus* nach YAMANOUCHI (1909).

Spermatiden von Spinnen zum Gegenstand. Der Kerninhalt ist einseitig im Kernbläschen angehäuft, an der Stelle, an der er der Membran anliegt, enthält das Plasma ein Centriol. Die Figur lehrt uns weiter, wie gleichzeitig kompaktere Körper von diesem angezogen werden können. Die beiden Heterochromosomen haben sich in ihrer Längsachse nach dem orientierenden Punkte eingestellt. Instruktiv sind die Bilder auch deshalb, weil sie einmal wegen des schon gebildeten Achsenfadens das Centriol sicher als solches erkennen lassen und dann, weil sie dartun, wie dieses keineswegs in einem besonders plasmareichen Teil der Zelle liegt, sondern kraft seiner Beziehungen zur Orientierung des Kerninhalts eine ganz spezifische Stelle in der Zelle einnimmt. — Wie das Centriol auch ein kompaktes akzessorisches Chromosom in die Membran ziehen kann, ohne daß der übrige, nicht mehr fädige Kerninhalt beeinflußt wird, ist aus den Spermatiden einiger Orthopteren ersichtlich (Textfig. 4).

Ich sehe in solchen Fällen Analoga zu dem Vorgange, wenn im Bukettstadium sich die Schleifen der Chromosomen in so auffälliger Weise nach

einem Punkte richten. Dabei ist es nicht notwendig, daß es sich bei Beginn dieser Orientierung bereits um ausgebildete Chromosomenschleifen handelt, schon das vorhergehende, noch Anastomosen besitzende Gerüst zarter Fäden kann den Einfluß in unverkennbarer Weise zeigen. Inwieweit er

Fig. 3.



Fig. 4.



Fig. 3. Zwei Stadien aus der Spermiogenese einer Spinne (*Agalena*) nach L. B. Wallace (1909).
Fig. 4. Spermatide einer Heuschrecke nach Buchner (1909).

auch an Nucleolen zu erkennen ist, kann bis jetzt nicht mit Sicherheit gesagt werden. Die Literatur enthält keine diesbezüglichen Angaben, aber es stehen den Bildern, die die Nucleolen beliebig im freien Kernraum liegend

Fig. 5.



Fig. 6.



Fig. 5. Bukettstadium von *Fucus* mit Strahlung und Centriol nach S. Yamanouchi (1909).
Fig. 6. Bukettstadium einer Heuschrecke mit zwei Heterochromosomen nach Buchner (1909).

zeigen (Fig. 5), auch solche gegenüber, aus denen sich eine Wanderung derselben zur Schleifenansatzstelle erschließen läßt. Immer aber handelt es sich dann bloß um örtliche Verschiebungen; Fälle, in denen gleichzeitig Gestaltsveränderungen an vorher nucleolenartigen Gebilden vor sich gehen,

weist nur das Gebiet der Heterochromosomen auf, doch sind diese wohl auf Kosten andrer Einflüsse zu setzen (Textfig. 6). — Hier sei auch ein pathologisches Bild angefügt, das sich in der botanischen Literatur findet und einen Einblick in die Entstehungsbedingungen des Buketts gestattet (Textfig. 7). Die Centriolen, die oft schon während des Bukettsstadiums in der Zweizahl auftreten, scheinen hier verfrüht an die beiden entgegengesetzten Pole gerückt zu sein und haben so die Entstehung eines doppelten Buketts veranlaßt[1]). — Im Begriff, diese Mitteilung abzuschließen, erscheint ein neuer analoger Fall in der zoologischen Literatur, der in so einwandfreier Weise für die hier vorgetragene Ansicht spricht, als man es sich nur wünschen kann. Morse (1909) beschreibt in der Spermatogenese

Fig. 7.



Fig. 8.

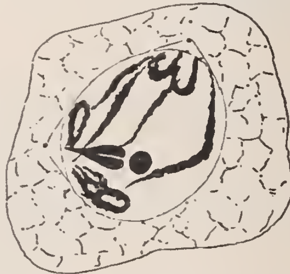


Fig. 9.



Fig. 7. Pathologisches Doppelbukettstadium von *Fucus* nach S. Yamanouchi (1909).
Fig. 8, 9. Entstehendes und ausgebildetes Doppelbukettstadium mit Centriolen nach Morse (1909).

von Blattiden ein Bukettstadium, das nach zwei Centriolen orientiert ist. Die Centriolen beginnen in der Folge auseinanderzuwandern und dabei das Bukett in zwei Tochterbuketts zu teilen (Textfig. 8, 9). Das Heterochromosom begleitet nur ein Centriol (daß der anhaftende Nucleolus der Rest einer zweiten ist, scheint dem Verf. entgangen zu sein), manche Schleifen haften mit einem Ende bei einem Centriol, mit dem andern folgen

---

[1]) Wenn ich der Kürze halber von »Kräften, Fähigkeiten usw.« des Centriols spreche, so soll damit durchaus nicht gesagt sein, daß dieses mit Eisenhämatoxylin sich schwärzende Körnchen oder Stäbchen tatsächlich Träger dieser orientierenden oder lösenden Kräfte ist. Eine Reihe von Tatsachen, wie das gelegentliche Fehlen eines färbbaren Körpers oder die Spindelbildung aus allseitig strahlenden Kernen in pflanzlichen Zellen oder Mitosen mit parallelen Spindelfasern und ähnliches zwingen uns vielmehr, die Centriolen und in noch viel höherem Maße die Centrosomen nur als sekundäre Bildungen eines an dieser Stelle lokalisierten Kraftzentrums anzusehen. Es tut also auch die Tatsache, daß es sicher Bukettstadien ohne Centriol gibt, den hier vorgetragenen Ansichten keinerlei Abbruch.

sie dem andern, wie dies auch bei *Fucus* der Fall ist. Auch das Endresultat ist ganz das gleiche, nur daß diesmal beide Centriole erhalten sind und wir Übergangsbilder haben, die die dort vermutete Entstehung bestätigen. (Die Membran des Kerns ist übrigens an den beiden Polen nicht so scharf erhalten, als dies in der Federzeichnung in die Erscheinung getreten ist.) MORSE hält diesen Vorgang für einen normalen. Das Doppelbukettstadium soll, nachdem sich die Schleifen noch mehr kondensiert haben, unmittelbar in die 1. Reifeteilung übergehen. Ich kann dieser Ansicht nicht beistimmen. Es sprechen vielmehr alle Erfahrungen dafür, daß wir es mit pathologischen Dingen zu tun haben und von einem verfrühten Teilungs-

Fig. 10.



Fig. 11.



Fig. 12.

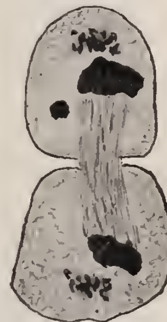


Fig. 10. Ei von *Mactra* nach KOSTANECKI (1904). Fig. 11 und 12. Erste Reifeteilung im Hoden einer Phryganide (Original). Fig. 12. Das ungleich verteilte Heterochromosom.

versuch reden müssen, nicht zuletzt die Angabe des Verfassers selbst, daß dieses Stadium nur selten zu finden sei[1]).

2. Die zweite morphologische Kategorie, auf die das Centriol der sich teilenden wie der ruhenden Zelle einen anziehenden Einfluß übt, sind die im Plasma zerstreuten chromidialen Gebilde. Bei vielen Reifeteilungen des Eies, bei seinen ersten Furchungen ist das eine oft beobachtete Tatsache. Ich greife aus der Fülle der Bilder eines, das sich auf *Mactra* bezieht, heraus (Textfig. 10), verweise ferner auf die besonders instruktiven Abbildungen von Nepheliseiern (JÖRGENSEN 1908), aus der botanischen Literatur wieder auf *Fucus* (YAMANOUCHI). In den Reifeteilungen des Hodens ist die Art der Verteilung des Chromidiums gewöhnlich eine andere, daß aber doch auch hier derselbe Modus vorkommen kann, belegen die Fig. 11 und

[1]) Auch kann die Tetradenbildung im engeren Sinn, die Umwandlungsperiode nach dem Bukettstadium, unmöglich mit der Fig. 25, Taf. XXVI abgetan werden. Es ist hier vielmehr eine beträchtliche Lücke in der Darstellung!

12 nach eigenen Beobachtungen am Hoden einer *Limnophilus* spec. (*Phryganidae*). Die Chromosomen liegen biskuitförmig in der Äquatorialplatte der ersten Reifeteilung. Die beiden Centralkörper sind umhüllt von der Mitochondrienmasse, die sie angezogen und ziemlich gleichmäßig verteilt haben. Da wir einen aktiven Zustand des Centriols auch im Bukettstadium schon annehmen, scheint es nach diesen Erfahrungen nicht weiter auffällig, daß auch hier schon die Mitochondrien sich an dieser Stelle sammeln, obwohl das Gesamtbild der Zelle noch ein ruhendes ist. Fälle, in denen entsprechend zwei schon auseinandergerückten Centriolen zwei Chromidialanhäufungen existieren, belegen ferner, daß es sich um ein ursächliches Zusammentreffen der beiden Dinge handelt. VEYDOVSKYS Untersuchungen an *Rhynchelmis*-Eiern z. B. bieten Beispiele hiervon. Hier handelt es sich um Ovocyten, die das Bukettstadium schon hinter sich haben. Aber auch in rein somatischen Zellen, die sich in völliger Ruhe befinden, bieten sich Parallelen (Membrana Descemeti: BALLOWITZ u. a.; Nervenzellen: LENHOSSEK, DEHLER u. a.; Amöbocyten: JOSEPH). — In übereinstimmender Weise treten hier die gleichen speziellen Modifikationen in Geschlechtszellen und Somazellen auf. Das Chromidium, sei es als feiner Körnerhaufen oder in der Form von Chondriokonten, liegt, wenn kein Centrosoma vorhanden ist, in dichten Mengen rings um und über das Centriol[1]). Ist ein solches vorhanden, so bleibt es stets frei vom Chromidium (Textfig. 13 für eine Geschlechtszelle von *Rana*, während des Bukettstadiums, Textfigur 14 für eine somatische des gleichen Tieres). Die Granula sammeln sich an dessen Grenze. Fließen sie, wie so oft, in Chondriokonten zusammen, so legen sich auch diese dicht an das Centrosoma an (Textfig. 15 für eine Geschlechtszelle während des Bukettstadiums, Textfig. 16 für eine somatische Zelle). Einen weiteren Fortschritt in der Tendenz der Verflüssigung des

---

[1]) Es ist bis jetzt nicht möglich, hier Anziehungskraft des Centriols und Affinität der Chromidialsubstanzen zu den Spindelfasern in bezug auf ihre Wirkungsweise scharf zu trennen. Daß letztere besteht, beweisen eine Reihe von Beobachtungen. So spielt die Erscheinung eine bedeutsame Rolle bei einem weitverbreiteten Verteilungsmodus der Mitochondrien. War die Centralspindel während der Metaphase von diesen frei, so wandern sie in der Anaphase und Telophase in die die Chromosomen bzw. Tochterkerne noch verbindenden Faserzüge und können diese völlig imprägnieren, wenn sie vorher Körnchenform besaßen. Chondriokonten dagegen folgen zwar dem gleichen Zug zu den Spindelfasern, legen sich aber meist blos äußerlich dicht an diese an. Der gleichen Affinität verdanken wohl auch die vereinzelten starren Strahlen, die vor allem vom Centriol vieler Leukozyten zur Zellperipherie gehen, und ähnliche Dinge ihre stützenden Einlagerungen. Auch die immer noch so häufige Verwirrung bezüglich Spindelrestkörper und Nebenkern hat ihre Ursache darin, daß die beiden so heterogenen Dinge sich aus diesem Grunde decken können.

Chromidiums stellt die Bildung von Anastomosen dar, wie sie allerdings schon bei den HEIDENHAINschen Centrophormien angebahnt ist, die bis zur Entstehung von Gitterkugeln gehen kann. In Somazellen hat hier BALLOWITZ seine Centrophormien beschrieben, aber sicher falsch gedeutet (Textfig. 18), eine analoge Bildung während des Bukettstadiums gibt Textfig. 17.

3. Nun gehört aber zur Charakterisierung des Bukettstadiums nicht

Fig. 13.



Fig. 15.



Fig. 17.

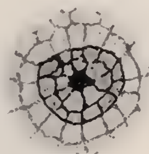


Fig. 14.

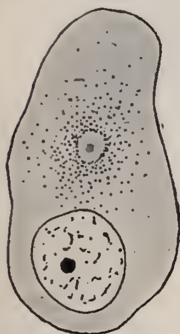


Fig. 16.

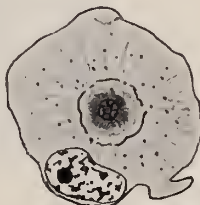


Fig. 18.

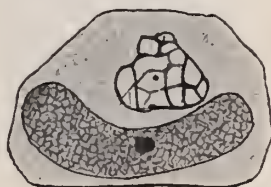


Fig. 13. Bukettstadium aus dem Ovar von *Rana* nach H. LAMS (1907). Fig. 14. Nervenzelle von *Rana* nach v. LENHOSSEK (1895). Fig. 15. »Pseudochromosomen« aus dem Hoden von *Proteus* nach HEIDENHAIN. Fig. 16. Amöbocyte von *Lumbricus* nach JOSEPH (1909). Fig. 17. Gitterförmige Struktur aus Spermatocyten von *Batrachoseps* nach EISEN (1900). Fig. 18. Centrophormien aus der *Membrana Descemeti* nach BALLOWITZ (1900).

nur die Art der Lokalisierung der Mitochondrien, sondern deren gleichzeitige bedeutende Massenzunahme. Die wenigen Substanzen, die sich in Ovogonien und Spermatogonien finden, folgen wohl auch dem anziehenden Einfluß des Centriols, aber sie genügen nicht, die ansehnliche Masse, aus der die Mitochondrienkappe sich zusammenzusetzen pflegt, zu erklären. Hier tritt die Annahme vieler Autoren und mit ihnen auch des Verfassers ein, die besagt, daß der vorzüglichste Teil hiervon während des Bukettstadiums aus dem Kern ins Plasma übertritt. Es ist hier nicht der Platz, das ganze Beweismaterial zu bringen, das sich im Laufe der

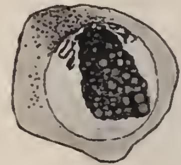
letzten Jahre zugunsten einer Ableitung der Chromidien aus dem Kernchromatin angesammelt hat; der Verf. hat schon einmal (1909), wie er glaubt, triftige Gründe speziell bezüglich des Bukettstadiums beigebracht, indem er vor allem einen beträchtlichen Substanzverlust, ja selbst ein vollständiges Verschwinden eines Heterochromosoms während dieses Stadiums beschrieben hat (Textfig. 19, 20). Außerdem sei noch ein Fall von *Proteus* wiedergegeben, in dem nach Untersuchungen von Jörgensen der Chromatinaustritt in selten schöner Weise in die Erscheinung tritt (Textfig. 21, 22; die Abbildungen sind einer demnächst erscheinenden Arbeit Jörgensens entnommen). Hier lassen sich die Chromosomenschleifen kontinuierlich ins Plasma verfolgen, in dem sie auf einem nächsten Stadium losgelöst vom Kern sich finden.

Über das Wie dieses Austritts sind wenig klare Äußerungen in der

Fig. 19.



Fig. 20.



Zwei Stadien der Substanzabgabe des accessorischen Chromosoms im Ovar von *Gryllus* nach P. Buchner (1909).

Literatur vorhanden. Die einen lassen das Chromatin »ausschwitzen«, ohne eine Verletzung der Membran anzunehmen, andre reden geradezu von einem Loch an dieser Stelle. Eine eingehendere Deutung der Vorgänge hat in letzter Zeit Popoff gegeben. Auf seine Vorstellungen müssen wir näher eingehen.

Die Beobachtung am Infusorienmakronukleus, daß das Wachstum desselben zwischen zwei Teilungen in zwei Phasen zerfällt, ein allmähliches funktionelles Wachstum, während dem der Kern nur wenig an Größe zunimmt und ein unvermittelt einsetzendes »Teilungswachstum«, das das Kernvolumen rapid vergrößert, übertrug er auf die Vorgänge der Synapsis und das Bukettstadium. Das Leptotänstadium stellt die Phase des funktionellen Wachstums dar; den Eintritt des Teilungswachstums bezeichnet die Synapsis. Die Flüssigkeitsmengen, die dabei von allen Seiten in den Kern treten, verursachen zentripetale Diffusionsströme, die dort zur Verklumpung der Schleifen führen. Die fortdauernden, aber ruhigeren

Ströme gestatten bald wieder ein Entwirren dieses Knäuels und eine gleichmäßigere Verteilung des Chromatins im Kern. Mit der Zeit entsteht aber doch wieder ein Mißstand. Der Überdruck des Enchylemmas nach außen wird zu groß und die Kernmembran wird an ihrer schwächsten Stelle zum Reißen gebracht. Der neue Strom nach dieser Seite führt die Schleifen mit sich und bewirkt, daß sie sich alle in eine Richtung stellen; es entsteht das Bukettstadium. Die Strahlen, die von dieser Stelle dann allseitig ins Plasma sich verfolgen lassen, sind Diffusionsströme. Popoff schließt also jede Bedeutung des Centriols aus. Alles, was wir im obigen vorgebracht

Fig. 21.



Fig. 22.



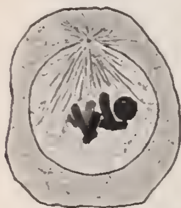
Zwei Stadien der Substanzabgabe der normalen Chromosomen bei *Proteus* nach M. Jörgensen (1910). Auf $^2/_3$ der Originalgröße verkleinert.

haben, spricht gegen diese Entstehung des Bukettstadiums. Nach Popoff ist die Orientierungsstelle des Buketts eine völlig beliebige. Insbesondere aber Fig. 8 und 9 haben uns deutlich gezeigt, wie wenig dies der Fall sein kann, wie unzweifelhaft die Lage der Schleifen eine Folge der Lage des Centriols ist. Was die radiären Strömungen ins Plasma betrifft, so halten wir sie für Strahlung eines oft nicht beobachteten Centriols (Fig. 5!). Unvereinbar ist natürlich auch mit Popoffs Auffassung der Dinge alles, was für eine anziehende Kraft der Centriols auf die Mitochondrien spricht, denn daß diese stets an dem Orientierungspol liegen, glaubt ja Popoff selbst.

Wir glauben, daß es auch hier eine Äußerung des Centriols ist, die den Austritt der Mitochondrien ermöglicht, eine Äußerung, die auch sonst bei jeder Mitose sich abspielt. Es sind besonders die Reifeteilungen im Ei und

im Hoden, sowie die embryonalen Mitosen, bei denen immer wieder zu beobachten ist, wie das Centralkörperchen zunächst nur in seiner unmittelbaren Nähe die Kernmembran auflöst. Eine Textfigur, die sich auf Reifeteilungen des Pollens von *Najas* bezieht, soll diesen Zustand wiedergeben. Die Kernmembran besitzt ein Loch in der Nachbarschaft des Centriols, die achromatische Substanz ist nach dieser Seite zu in einen Teil der zukünftigen Centralspindelfasern umgewandelt und orientiert worden; das Chromatin hat aber bereits die definitive Chromosomenform. Die Ähnlichkeit eines solchen Stadiums mit dem des Buketts ist meiner Meinung nach überraschend. Wirkt das Centriol in gleicher Weise früher ein, und ist die chromatische Substanz noch auf dem ganzen Kerngerüst verteilt, so entsteht notwendig eine einseitige Orientierung, wie im Bukettstadium, und das Chromatin besitzt gleichzeitig einen Weg, auf dem es ins Plasma austreten kann. Daß dies in erster Linie durch einen infolge der Auflösung entstehenden osmotischen Strom geschieht, nehme ich mit Popoff an.

Fig. 23.



Auflösung des Kerns vor der Mitose bei *Najas* nach L. Guignard (1899).

Man könnte nun einwerfen, daß dieser osmotische Strom auch genüge, um die Schleifenstellung zu erklären und folglich die Auseinandersetzungen bezüglich einer Anziehungskraft auf Körper im Kern überflüssig gewesen seien. Allein dagegen spricht vor allem, daß es eine polare Orientierung im Kern gibt auch in Fällen, in denen die Kernmembran intakt ist und sicher kein Chromatin ins Plasma tritt (Textfigur. 1 u. 3), und daß sich gleichzeitig Äußerungen derselben Kraft im Plasma zeigen.

Völlig unvereinbar mit den nun vorgetragenen Ansichten über die Beziehungen zwischen Centriol und Bukettstadium sind die Darlegungen Veydovskys (1907). Es hat den Anschein, daß seine Auffassung weiteren Boden zu fassen beginnt, Winiwarter und Dobell haben sich ihr angeschlossen, nachdem Soyer schon vor Veydovsky gleichartige Behauptungen aufgestellt hatte, die letzterem entgangen sind. Die Ansichten des böhmischen Zoologen gehen dahin, daß alles, was als Nebenkern, Dotterkern, Chromidalkappe, Centrophormien usw. beschrieben worden ist, nichts mit Chromatin zu tun hat, sondern lediglich als verschieden geformte Reste degenerierender Sphären, also als plasmatische Substanz zu betrachten sind. Es liegt allerdings eine richtige Erkenntnis in dieser Behauptung, die wir auch hier vertreten, nämlich daß unzweifelhafte Beziehungen zwischen Sphäre und Chromidialapparat vorhanden sind. In

dem Wie dieses Zusammenhangs aber gehen unsre Deutungen nach ganz verschiedenen Richtungen. Hier hat VEYDOVSKY den Fehler gemacht, topographische Beziehungen und genetische zu verwirren. Eine Reihe triftiger Gründe sprechen hierfür. Degenerierende Strahlenfiguren setzen voraus, daß intakte unmittelbar vorhergehen. Nirgends aber ist meines Wissens beschreiben worden, daß die Strahlung der letzten Ovogonien- oder Spermatogonienteilung erhalten bleibt und daß in dieser Strahlung allmähliche Prozesse auftreten, die zur Bildung der Chromidialkappe führen. Das verlangt aber die Hypothese VEYDOVSKYS. Die Strahlungen an dem Orientierungspol stellen vielmehr eine Neubildung dar, bedingt durch die wieder beginnende Tätigkeit des Centriols, und gleichzeitig mit dem Entstehen der Strahlen treten die Mitochondrien dort zusammen. Als persistierendes Sphärenplasma käme also nur der sog. Spindelrestkörper noch in Betracht, dieser aber liegt, wenn er sich im Bukettstadium erhält, an irgend einer Stelle, entfernt von der Chromidialkappe. Was die Nebenkerne in den Eiern betrifft, etwa bei Spinnen, Insekten oder Cölenteraten (CHUN 1886), so treten sie häufig überhaupt erst auf, wenn in dem schon vergrößerten Ei keine Spur von einer Strahlung mehr zu erkennen ist. Der Verf. konnte sich besonders an den Eiern von *Gryllus* hiervon überzeugen. Schließlich spricht natürlich alles gegen VEYDOVSKY, was für einen Austritt der Substanzen aus dem Kern spricht, Figuren wie die von *Gryllus* und *Proteus* (Fig. 19—22), die Auflösung der Kernmembran durch das Centriol, die Fähigkeit desselben, im Plasma zerstreute Körnchen um sich zu sammeln, kurz der ganze Inhalt der vorstehenden Zeilen. Es war mit ein Hauptzweck dieser Mitteilung, auf die Unhaltbarkeit dieser Einwürfe hinzuweisen, die vielleicht imstande sein könnten, hemmend zu wirken auf die noch junge, aber entwicklungsfähige Lehre vom Chromidialapparat.

Literaturverzeichnis.

BALLOWITZ, E. Über das Epithel der Membrana elastica posterior des Auges, seine Kerne und eine merkwürdige Struktur seiner großen Zellsphären. Ein Beitrag zur Kenntnis der Organisation der Zelle. Arch. mikr. Anat. Bd. 56. 1900.

BUCHNER, P. Das akzessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellf. Bd. 3. 1909.

CHUN, C. Die canarischen Siphonophoren in monographischer Darstellung. Abh. der Senkenb. Nat. Ges. Bd. 16, Bd. 18. 1891, 1892.

DEHLER, AD. Der feinere Bau der sympathischen Ganglienzellen des Frosches. Arch. mikr. Anat. Bd. 46. 1895.

Dobell, C. C. Chromidia and the Binuclearity Hypothesis: a Review and a Criticism. Quart. Journ. Micr. Sci. Vol. 53. 1909.

Eisen, G. The Spermatogenesis of Batrachoseps. Journ. Morph. Vol. 17. 1900.

Goldschmidt, R. und Popoff, M. Die Karyokinese der Protozoen und der Chromidialapparat der Protozoen- und Metazoenzelle. Arch. f. Protistenk. Bd. 8. 1907.

Guignard, L. Le développement du Pollen et la Reduction chromatique dans le Najas major. Arch. Anat. micr. Vol. II. 1899.

Heidenhain, M. Die Zentralkapseln und Pseudochromosomen in den Samenzellen von Proteus, sowie über ihr Verhältnis zu den Idiozomen, Chondriomiten und Archoplasmaschleifen usw. Anat. Anzeiger. Bd. 18. 1900.

Janssens und Willems. Spermatogenèse dans les batraciens. La spermatogenèse dans l'Alytes obstretricans. La Cellule. Vol. 25. 1909.

Jörgensen, M. Untersuchungen über die Eibildung bei Nephelis vulgaris Moquin Tandon (Herpobdella atomaria Carena). Arch. f. Zellf. Bd. 2. 1908.

Joseph, N. Die Amöbocyten von Lumbricus. Ein Beitrag zur Naturgeschichte der zellulären Zentren. Arb. zoolog. Inst. Wien u. Triest. Bd. 18. 1909.

Kostanecki, K. Cytologische Studien an künstlich parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von Mactra. Arch. mikr. Anat. Bd. 64. 1904.

Lenhossek, v. Zentrosom und Sphäre in den Spinalganglienzellen des Frosches. Arch. mikr. Anat. Bd. 46. 1895.

Lams, Hon. Contribution à l'étude de la genèse du vitellus dans l'ovule des Amphibiens (Rana temporaria). Arch. Anat. Micr. Tom. 9. 1907.

Meves, Fr. Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von Salamandra maculosa. Arch. mikr. Anat. Bd. 48. 1896.

— Über oligopyrene und apyrene Spermien und über ihre Entstehung nach Beobachtungen an Paludina und Pygaera. Arch. mikr. Anat. Bd. 61. 1902.

Morse, M. The nuclear components of the sex cells of four species of cockroaches. Arch. f. Zellf. Bd. 3. 1909.

Popoff, M. Experimentelle Zellstudien. Arch. f. Zellforsch. Bd. 1. 1908.

Schneider, K. C. Lehrbuch der vergleichenden Histologie der Tiere. Jena 1902.

Soyer, Ch. Sur l'ovogenèse de la Punaise des bois. Compt. rend. soc. biol. Vol. 61. 1906 (auch: Réunion biol. Nancy 1906).

Veydovsky, F. Neue Untersuchungen über Reifung und Befruchtung. Böhm. Ges. d. Wissensch. 1907.

Wallace, Luise B. The spermatogenesis of Agalena naevia. Biol. Bull. Bd. 17. 1909.

Wassilieff, A. Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. mikr. Anat. Bd. 70. 1907.

Winiwarter, H. von et Saintmont, G. Nouvelles recherches sur l'ovogenèse et l'organogenèse de l'ovaire des mammifères (chat). Chap. IV. Ovogenèse de la zone corticale primitive. Arch. Biol. Tom. XXIV. 1909.

Yamanouchi, Shigeo. Mitosis in Fucus. The Bot. Gazette. Vol. 47. 1909.

Further studies on the Gametogenesis of Pandarus sinuatus, Say.

By

J. F. Mc Clendon.

(From the Zoological Laboratory of the University of Missouri and the Histological Laboratory of Cornell University Medical College, New York City.)

With 1 figure in the text and plate XVII.

In two former papers [1]) I considered certain phases of this subject, but owing to the increasing interest in the part played by the chromosomes in heredity a more detailed study seemed advisable. The present paper considers especially the individuality of the chromosomes during the gametogenesis.

Material and Methods.

During the summers of 1904—6 and 1909 I collected parasitic copepods at Woods Hole. The most favorable species for the study of the gametogenesis seemed to be *Orthagoriscicola muricata* KRÖYER [2]), which occurs on the gills of the moon fish, Selene vomer, but more abundantly on the skin of the sun fish, Mola mola. The only specimens of this species which I was able to obtain were fixed in toto, so that a more abundant species, *Pandarus sinuatus*, which occurs on the skin of the smooth dog fish and the sand shark, had to be used. The integument of the copepods was partly removed or the sexual organs dissected out to insure rapid penetration of the fixing fluid, FLEMMING's. Thin sections were made and stained in iron haematoxylin.

---

[1]) Biological Bulletin, 1906, XII, p. 37 and 1907, XIII, p. 114.

[2]) See Proc. National. Museum, XXXIII, p. 473, for description and figure.

The primary germ cell is separated at the fifth cleavage of the egg at the ventral edge of the blastophore. It and its descendants may be distinguished by their position in the embryo and slow rate of division. When the germ cells have increased to four, they migrate to the definitive position of the gonads and continue to multiply, but the sex cannot for some time be distinguished.

Spermatogenesis.

In the former study of the spermatogenesis I was chiefly interested in tracing the development of those „spermatids" which do not become spermatozoa, but are transformed into food reservoirs by the accumulation of plastic products within the nuclei. In the present account the history of the chromatin will be chiefly considered.

The spermatogonia are polyedral cells containing large nuclei the chromatin of which exists in the form of a reticulum associated with one or more plasmosomes. During mitosis sixteen chromosomes may be counted, all of which are apparently equal in size.

The primary spermatocytes are smaller than the spermatogonia but have at first a somewhat similar arrangement of chromatin, fig. 1. If plasmosomes are present they are too small to be distinguished from the chromatin reticulum. The chromatin reticulum soon begins to condense into slender filamentous chromosomes giving the typical leptotane stage, text fig. It is to be expected that some of the filaments might be in contact when first formed, and such seems to be the case, but I have never been able to persuade myself that they ever constitute a continuous spireme such as has often been seen in nuclei. Fig. 2 represents an optical section showing the sixteen filaments. Erroneous impressions may easily result from a study of optical sections, and I do not present this as evidence of the number of filaments, which I have determined by a careful study of whole nuclei, but such a figure gives a better idea of the appearance of the filaments.

The filaments bunch up in the synezesis stage and at the same time become straighter, figs. 3—6. For this reason the chromosomes of this species are more favorable for study at this particular stage than those of the free swimming copepods[1]). During the synezesis stage parallel synapsis takes place, i. e. the chromosomes become associated in pairs with the members of each pair parallel, figs. 3—5. The synezesis zone occupies a considerable part of the testis. I have sectioned and studied

[1]) Cf. Lerat: La Cellule, 1905, XXII, p. 161.

numbers of these testes, yet in no case has it been possible to count the number of chromosomes in the early part of synezesis. The paired arrangement of them, however, is clearly seen. Near the end of this stage all of the filaments can sometimes be distinguished, and are eight in number, thicker than in the leptotane stage, and double at least in some parts, fig. 6.

The eight double filaments now become dispersed toward the periphery of the nucleus, giving the diplotane stage, figs. 7 and 8. The double filaments often interlace so that they cannot be counted, although where counting is possible eight are found. The double chromosomes now shorten, fig. 9, and I once thought that a transverse constriction was present, yet this might possibly be an accidental notch in the ragged outline of the double chromosome, and further study has not cleared up this point.



At a little later stage, however, a distinct second division is present, transforming the double chromosome into a tetrad, fig. 10. The shape of the tetrad is such that its longitudinal axis cannot be determined, and therefore it is impossible to decide whether the second division (constriction) is longitudinal or transverse.

The two maturation mitoses then rapidly follow, distributing the parts of each tetrad into the four spermatids, figs. 11—13. Owing to the form of the tetrads it would be difficult to decide whether the reduction in number of the chromosomes occured in the first maturation mitosis (pre-reduction) or in the second (post-reduction), but before going into this question we may briefly consider whether pre- and post-reduction have different effects in heredity.

Obviously in ordinary sexual reproduction if reduction occurs at all, it is immaterial whether it takes place during the first or second maturation mitosis. Weismann found that there is no second maturation division in certain parthenogenetic eggs, and concluded that reduction is thus omitted. Recent investigations show, however, that if synapsis occurs

reduction takes place, whether the egg be parthenogenetic or not. Shall this fact prove universally true WEISMANN's hypothesis is erroneous and the question of pre- or post-reduction can have no significance in heredity. For this reason we will not discuss this question in relation to the spermatogenesis of *Pandarus.* The significant fact is that reduction has taken place, i. e. that each spermatid contains numerically one half of the same individual chromosomes that were present in the primary spermatocyte. This process is shown diagrammatically in the accompanying text figure.

Oogenesis.

The oogenesis is similar to the spermatogenesis through the synezesis stage. The primary oocytes are larger than the primary spermatocytes when first formed, and this difference increases as growth proceeds. The leptotane stage is shown in fig. 14, and two cells in the synezesis stage are seen in fig. 15. Immediately after synezesis a plasmosome is found, but whether it existed during synezesis could not be determined owing to the massed condition of the chromosomes.

Eight filaments radiate from the plasmosome and in favorable aspects are seen to be double, thus showing that the diplotane stage has been reached, fig. 16. These eight double filaments arose by a longitudinal synapsis in the synezesis stage, from the sixteen single filaments of the leptotane stage.

The growth period now begins, fig. 16; the cell outlines first disappear but reappear some time after the oviduct is reached. During the syncytial stage the cytoplasm becomes filled with basophile granules. MOROFF[1]) found, in the eggs of free swimming copepods, basophile granules extruded from the nucleus into the cytoplasm, but I have not noted a similar origin of the granules mentioned above. The oocytes have now become much flattened and suggest in their arrangement a pile of coins. The yolk is deposited in the form of proteid bodies ond oil droplets. The plasmosome becomes vacuolated and is probably in process of solution. Fig. 17 shows a nucleus and fig. 18 a section of an entire oocyte on a less magnified scale, at this stage. The black bodies in the cytoplasm are proteid and the light spots are fat.

The yolk accumulates and crowds the nucleus. The nuclear sap becomes basophile and the nuclear wall disappears leaving the eight double filamentous chromosomes radiating from the large plasmosome and sur-

[1]) Arch. f. Zellforschung, II, S. 432.

rounded by a cloud of chromatin granules, in the centre of a yolkfree area, fig. 19. The chromosomes have already begun to shorten. The plasmosome disappears, and the chromosomes continue to shorten until their breadth equals their length, when a second, though only partial, division transforms them into tetrads. The first division can be distinguished as it is the most complete, and the tetrads become arranged on the first maturation spindle so that the resulting mitosis separates whole chromosomes, and thus pre-reduction takes place, fig. 20. This reduction division is easily followed in the related species, *Orthagoriscicola muricata*, fig. 22. The second maturation mitosis is equational and separates the halves of the resulting diads, fig. 21. A diagram of the synapsis and reduction is shown in the accompanying text figure, and illustrates in general both spermatogenesis and oogenesis. The plasmosome and growth of the nucleus in the oogenesis are not represented.

Vs. the Critique of Hagedoorn.

Studies relating to the individuality of the chromosomes have been brought into special prominence owing to the debated question of the relation of the visible parts of the germ cells to the factors discovered by analyzing breeding experiments. I will make no attempt at a general consideration of this subject, but wish to call attention to an argument brought forward in a recent paper on animal breeding. HAGEDOORN[1]) says: „I do not see why we should attach any more value to the inheritance of a chromosome than to that of any other organ or character.“ I should like to emphasize the fact that the chromosomes and the other parts of the mitotic figure are the only „organs“, to use HAGEDOORN's term, that are seen to be transmitted bodily to the daughter cells in cell division.

In order to depreciate the significance of the chromosomes in heredity, HAGEDOORN states further that „GODLEWSKI — succeeded in fertilizing enucleated eggs of the sea-urchin with sperm of a crinoid, with the result that the ensuing larva — developed into a normal sea-urchin gastrula“. Now compare this with his further statements that „All inheritance is Mendelian inheritance“ and „It is impossible for a character to be in a recessive condition“ (p. 33). How can we harmonize these statements? If all inheritance is Mendelian and characters of immature stages are on a par with adult characters, how does he account for the

[1]) Arch. f. Entwicklungsmech., 1909, XXVIII, S. 28.

fact that the sea-urchin ♀ crinoid ♂ hybrid showed only maternal characters? Certainly the crinoid is not distinguished from the sea-urchin merely by the absence of characters. It is very doubtful whether all inheritance is Mendelian, and GODLEWSKI's experiment does not disprove the hypothesis that the chromosomes bear some of the Mendelian factors.

It has not been demonstrated that the characters of the sea-urchin or crinoid larvae obey Mendelian laws, and the purely maternal character of the hybrid might be explained on the ground that the strange spermatozoon did not immediately affect the organization of the egg. TENNANT produced hybrid echinoderm larvae showing only paternal characters by decreasing the alkalinity of the sea water.

Explanation of Plate.

Fig. 18 was drawn with the camera lucida with ZEISS apochr. homogen. ob. 2 mm, oc. 4; figs. 6—8 and 14 with oc. 12; the remainder with oc. 18 and reduced $^1/_3$. Figs. 1 to 21 are from *Pandarus sinuatus* Say; fig. 22 is from *Orthagoriscicola muricata* Kröyer.

Fig. 1. Spermatogonium.
Fig. 2. Primary spermatocyte, leptotane stage.
Figs. 3—6. Primary spermatocyte, synezesis stage.
Figs. 7—8. Primary spermatocyte, diplotane stage.
Figs. 9—10. Primary spermatocyte, formation of tetrads.
Figs. 11—12. Primary spermatocyte, first maturation mitosis.
Fig. 13. Secondary spermatocyte, second maturation mitosis.
Fig. 14. Primary oocyte, leptotane stage.
Fig. 15. Primary oocyte, synezesis stage.
Fig. 16. Primary oocyte, diplotane stage.
Figs. 17—18. Primary oocyte, growth period.
Fig. 19. Primary oocyte, first maturation mitosis, prophase.
Fig. 20. Primary oocyte, first maturation mitosis.
Fig. 21. Secondary oocyte, second maturation mitosis.
Fig. 22. Primary oocyte, first maturation mitosis, side view of equatorial plate.



Mc Clendon & Kline del. Verlag v. Wilhelm Engelmann, Leipzig. Lichtdruck v. C. G. Röder, G. m. b. H., Leipzig.

Contributo alla distribuzione ed alla fisio-patologia cellulare dei lipoidi.

Per

C. Ciaccio,
Libero-docente d'Istologia patologica.

(Istituto di Anatomia Chirurgica della Ra. Università di Palermo, diretto dal Prof. G. Parlavecchio.)

Con tavole XVIII—XX.

Introduzione.

J. Bang[1]) in una sua recente rivista sui lipoidi, considerati dal punto di vista biochimico, osserva che mentre prima si attribuiva nei processi biologici una grande importanza alle sostanze proteiche, in questi ultimi anni invece se ne attribuisce una notevole alle sostanze lipoidi. Queste infatti vengono considerate piuttosto come un costituente essenziale delle cellule sia animali che vegetali, anzichè come sostanze di riserva. Basta scorrere la letteratura di questo ultimo decennio per vedere come lo studio dei lipoidi sia diventato un argomento di moda e come si sia cercato di attribuire a tali sostanze un ufficio importante nei processi vitali, di maniera chè si può affermare che alcuni capitoli di fisiologia, di patologia e di farmacologia sono entrati in una nuova fase.

Per quanto però siano abbastanza progredite le nostre conescenze sulla biochimica dei lipoidi, sappiamo ben poco riguardo al modo col quale sono distribuiti nelle cellule e ciò per il fatto che finora sono mancati dei mezzi d' indagine sicuri. Ho creduto perciò non privo di importanza di istituire delle ricerche a tale riguardo, che mentre da una parte potessero portar luce sulla localizzazione dei lipoidi nelle cellule, potessero d' altra parte contribuire ad una più esatta conoscenza sul metabolismo di queste

---

[1]) J. Bang, Ergebnisse der Physiologie, VII. Jahr.

sostanze. Debbo intanto dichiarare che, data la vastità dell' argomento, non ho potuto dare uno sviluppo sufficiente a tutti i capitoli da me trattati; spero però di potere colmare le deficienze con ricerche successive.

Sguardo generale ai lipoidi.

Tra le sostanze grasse si è cercato di individualizzare un gruppo speciale sotto il nome di lipoidi, i quali sebbene godano di molti caratteri comuni ai corpi grassi per altri si differenziano da questi. Non è agevole però definire e delimitare bene il concetto di lipoide e siamo costretti a confessare che a tale riguardo regnano molta incertezza e confusione. Così vediamo che tale concetto è differente per i chimici e per i biologi: I primi ordinariamente intendono sotto il nome di grassi delle sostanze ternarie e costituenti gli acidi grassi e i rispettivi eteri di questi e sotto il nome di lipoidi delle sostanze più o meno complesse che oltre a *C*, *H*, *O* contengono nella loro molecola *N*, *Ph*. I biologi invece hanno un concetto più largo e poco definito, considerando come lipoidi non solo le sostanze ora menzionate, ma anche degli alcooli come la colesterina, gli eteri della colesterina, i lipocromi e spesso anche sostanze non ben definite e caratterizzate soltanto dalla loro solubilità in uno dei solventi delle sostanze grasse.

È merito di Thudichum[1]) di avere arricchito le nostre conoscenze riguardo ai lipoidi, che ha distinto in fosforati e non fosforati: accennerò solo ai primi sia per loro importanza e diffusione, sia perchè non è sicuro se i secondi preesistano come tali oppure siano dei prodotti di scissione di lipoidi complessi sotto l'influenza delle manipolazioni tecniche. I lipoidi fosforati furono denominat ida Thudichum fosfatidi ed avrebbero come carattere comune quello di essere dei derivati dell' acido fosfoglicerico.

Tra i fosfatidi vanno considerati principalmente i seguenti:

1. Le lecitine, che sono le sostanze più importanti di questo gruppo al punto che alcuni considerano come tali tutti i lipoidi fosforati. Esse risultano costituite di un acido grasso, di acido fosfoglicerico e di una base azotata: potendo variare sia l'acido grasso che la base azotata ne segue che si possono avere diverse varietà di lecitina. L'acido grasso è rappresentato dall' acido oleico, palmitico o stearico, ma per lo più prevalgono questi due ultimi; la base azotata ordinariamente è rappresentata dalla colina, ma al posto di questa si può trovare la neurina, la betaina, la muscarina ecc.

---

[1]) Thudichum, Chemische Konstitution des Gehirns des Menschen. Tübingen 1901.

2. La cefalina, isolata da Thudichum dal cervello, dove si troverebbe sotto forma di un sale di magnesia e di ferro, presenta una costituzione quasi simile a quella delle lecitine, colla differenza che la colina è sostituita da una base simile e l'acido grasso è rappresentata dall' acido cefalico, appartente come l'acido oleico alla serie non saturata (etilenica).

3. Come sostanze affini alla lecitina ed aggruppate da Thudichum sotto il nome di mielani vengono considerate: a) la mielina la quale secondo alcuni è un corpo complesso, risultante dall' unione di parecchi lipoidi; b) la paramielina; c) la sfingomielina; d) l'aminomielina; e) l'assurina.

4. La jecorina è un fosfatide, il quale fu isolato da Drechsel[1]) e poi da Baldi[2]) dal fegato e dalla milza ed in seguito da altri autori da organi differenti; questo lipoide sembra risultare dalla combinazione di lecitina e di un idrato di carbonio. Sostanze simili sono state isolate anche nelle piante.

5. Il protagono è una sostanza molto complessa, che mentre secondo alcuni sarebbe ben definita, secondo altri invece risulterebbe da un miscuglio di parecchi lipoidi, di cui alcuni fosforati ed altri non fosforati. Tra i prodotti di sdoppiamento del protagono si trovano oltre quelli della lecitina, anche un idrato di carbonio (galattosio?) ed altri lipoidi non fosforati, detti cerebrosidi. Da questi fatti risulterebbe che questo lipoide mentre ha dei punti di contatto colla jecorina, se ne differenzia da questa per la presenza nella sua costituzione molecolare di cerebrosidi.

6. In questi ultimi tempi specialmente sono state isolate da differenti cellule delle sostanze lipoidi non sempre ben definite; a tale riguardo ricordo le ricerche di Iscovesco[3]) sui lipoidi dei globuli rossi e della tiroide, di Erlandsen[4]) sui fosfatidi del cuore, di Fränkel[5]), il quale tra le lecitine dell' uovo ha isolato un fosfatide, che chiama neottina. Oltre ai lipoidi vengono da alcuni considerati come tali delle sostanze risultanti dalla combinazione più o meno stabile di un lipoide e di una proteina. Queste però debbono essere considerate piuttosto come proteidi, in cui il lipoide costituisce il gruppo prostetico e ciò in base ai concetti stabiliti da Hoppe-Seyler e da Kossel.

---

[1]) Drechsel, Journ. prakt. Chemie. XXXIII.

[2]) Baldi, Arch. f. Anat. und Phys. 1887.

[3]) Iscovesco, C. R. de la Soc. de Biologie. 1908; Journal de Phys. et de Path. générale. T. X. 1908.

[4]) Erlandsen, Zeitschr. f. Phys. Chemie. Bd. LI. 1907.

[5]) Fränkel, Bioch. Zeitschr. IX. 1908.

In questo gruppo di sostanze vanno considerate la lecitalbumina di Liebermann e le vitelline di Hoppe-Seyler; secondo quest' ultimo autore anche l'emoglobina e la clorofilla dovrebbero essere considerate nello stesso gruppo.

Metodi di ricerca.

Per quanto la chimica biologica ci abbia illuminato sulla presenza di lipoidi fosforati in organi e tessuti differenti, pure dati i metodi di cui essa dispone, poco o nulla ha potuto dirci riguardo alla localizzazione precisa di queste sostanze nelle diverse cellule.

A questo ultimo scopo si è cercato di utilizzare diversi metodi, i quali tendono a stabilire la topografia dei lipoidi nelle cellule: per comodità di studio distinguerò tali metodi in indiretti e diretti.

I. Metodi indiretti.

Chiamo indiretti quei metodi, che cercano di stabilire la topografia dei lipoidi in alcune cellule non già in base ad osservazioni dirette, ma invece in base ai risultati di ricerche biochimiche. In tale categoria considero principalmente le ricerche relative: A) alla permeabilità delle cellule di fronte alle sostanze solubili nei grassi; B) le ricerche relative ad alcuni fenomeni che si svolgono nel campo dell' immunità:

A) Overton[1]) e Mayer per i primi e indipendentemente uno dall' altro hanno trovato che le cellule animali e vegetali sono permeabili in alto grado per le sostanze, solubili nei grassi e che tale permeabilità è appunto in rapporto diretto col grado di solubilità.

Tale teoria è basata sul fatto che le cellule sono molto sensibili all' azione dei narcotici, i quali sono appunto delle sostanze solubili nei grassi. In base a tali fatti, sperimentalmente constatati, Overton ammette che le cellule siano avvolte da una membrana lipoide, nella quale entrerebbero come costituenti essenziali la lecitina e la colesterina.

Mayer[2]) ritornando in epoca molto recente sullo stesso argomento va ancora più lungi, ammettendo che ogni cellula sia avvolta da una membrana lipoide, la quale manda nell' interno del protoplasma dei setti della stessa natura. Sotto l'ispirazione di questa teoria G. Rossi[3]) recentemente ha cercato di spiegare la tanto controversa questione dell' assor-

---

[1]) Overton, Studien über die Narkose. Jena 1901.

[2]) H. Mayer, V. Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche. 1909.

[3]) G. Rossi, Archivio di Fisiologia. 1908.

bimento dei grassi da parte dell' epitelio intestinale: questo autore infatti ammette che nelle cellule dell' epitelio intestinale, anche dopo fissazione in formolo è dimostrabile una sostanza, che mentre da una parte è solubile nei solventi dei grassi (xilolo), d'altra parte si mostra anche un buon solvente dell' acido oleico, specialmente quando questo è emulsionato con una soluzione di sali biliari.

Anche Bottazzi[1]) ha isolato dall' epitelio intestinale un proteide complesso, il quale è capace di sciogliere una certa quantità di cloroformio e di acidi grassi, comportandosi così come un lipoide.

Alla teoria di Overton-Meyer però sono state mosse varie obbiezioni tra le quali ricordo quelle di Traube[2]) e di J. Loeb[3]): Traube fa notare anzitutto che la velocità colla quale l'acqua penetra nelle cellule non sembra potersi conciliare colla dottrina di Overton, quantunque questi abbia cercato di spiegare ciò col fatto che i lipoidi si rigonfiano molto nell' acqua; inoltre le eccezioni alla suddetta teoria sono parecchie. Sicchè Traube ha cercato di mettere avanti un altra dottrina basata sulla tensione superficiale: infatti egli avrebbe dimostrato che la velocità osmotica di una sostanza disciolta è tanto più grande quanto più grande è l'abbassamento della tensione superficiale prodotta dalla dissoluzione di tale sostanza. Spiega poi i fatti messi avanti da Overton affermando che le sostanze solubili nei grassi abbassano notevolmente la tensione superficiale.

J. Loeb a tal proposito dice »étant donné que les cellules ne se nourrissent pas seulement d'eau, mais empruntent encore à leur milieu des sels, et dans certains cas, des sucres, des albuminoides etc. il est évident que toutes ces substances doivent pouvoir diffuser du milieu extérieur à l'intérieur des cellules. Il est donc faux de se représenter les cellules comme entourées de membranes perméables à l' eau et aux substances solubles dans les graisses, imperméables pour tous les autres — idée que Overton a encore émise recemment.«

Questo autore inoltre ha dimostrato la permeabilità delle cellule per un gran numero di soluzioni di sali differenti.

In conclusione è tutt' altro che dimostrato che le cellule siano circondate da una membrana lipoide: e quand' anche si volesse ammettere come vera la dottrina di Overton-Meyer è del tutto arbitrario volere ammettere in tale rivestimento periferico cellulare dei componenti lipoidi

1) Bottazzi, Ibidem. 1904.

2) Traube, Pflügers Archiv. 1904.

3) J. Loeb, La dynamique des phénomènes de la vie. Paris 1908.

come la lecitina e la colesterina, perchè le sostanze narcotiche sono solubili non solo in tali lipoidi, ma anche nei grassi comuni (trigliceridi, acidi grassi).

B) Le ricerche sul meccanismo dell' immunità, istituite specialmente in questi ultimi anni, hanno messo in evidenza l'importanza dei lipoidi e specialmente della lecitina e della colesterina. — Troppo lungi mi porterebbe l'analisi di tali ricerche, perciò mi contenterò di accennare brevemente ad alcuni fatti generali, dai quali possa scaturire qualche cosa riguardante la localizzazione dei lipoidi in alcuni elementi.

Anzitutto sono di grande importanza le ricerche relative all' emolisi prodotta dal veleno del cobra e da altri veleni che si comportano in maniera analoga.

Flexner e Noguchi[1]) hanno constatato che il veleno dei serpenti esercita un' azione emolitica sul sangue defibrinato, azione che cessa di verificarsi dopo aver liberato le emazie dal siero. Kyes e Sachs[2]) riprendendo queste esperienze hanno trovato che non tutte le emazie, liberate dal siero, resistevano all' azione emolitica: secondo questi autori le emazie di montone, di capra di bue non sono distrutte dal solo veleno, ma è necessario aggiungere alla miscela del siero, mentre le emazie di cane, di cavia e di uomo sono distrutte dal veleno senza alcuna aggiunta di siero. Da queste esperienze si doveva dedurre che: o la sensibilizzatrice fosse capace di agire senza alessina o che alcune emazie portassero con se l'alessina stessa, si trattase cioè d'una endo-alessina. Altre ricerche hanno dimostrato questa ultima possibilità e cioè che in una miscela di emazie di bue e di veleno non si ha emolisi, la quale si verifica invece aggiungendo a tale miscela delle emazie di cavia lavate. Kyes e Sachs inoltre hanno dimostrato che l'endo-alessina si trova localizzata nello stroma delle emazie. Se ora lo stroma delle emazie si estrae coll' alcool l'emolisi non si produce più, mentre questa si verifica aggiungendo l'estratto alcoolico. Inoltre sostituendo agli stromi ed all' estratto alcoolico della lecitina di qualsiasi provenienza si ha egualmente emolisi. Da tali ricerche si è giunto così alla conclusione che i globuli rossi contengono nello stroma della lecitina; questo lipoide in alcune emazie si troverebbe in combinazione labile (emazie di cavia, d' uomo e di cane) mentre in altre si troverebbe in combinazione forte (emazie di bue, di montone e di capra). Queste esperienze sono state anche ripetute con estratti di varii organi normali e di tumori maligni e si è visto che questi contengono lecitina o sostanze affini.

---

[1]) Flexner and Noguchi, Journ. of exp. Med. 1902.
[2]) Kyes und Sachs, Berl. klin. Wochenschr. 1903.

II. Metodi diretti.

Lascio da parte i metodi chimici, perchè come ho già detto questi ci dicono semplicemente della presenza di lipoidi in un dato organo o tessuto, senza naturalmente potere stabilire la loro localizzazione cellulare. Parlerò perciò di quei metodi che tendono a dimostrare i lipoidi nelle diverse cellule: per comodità di descrizione distinguerò tali metodi in microfisici e microchimici[1]).

A. Metodi microfisici.

Da questo punto di vista sono stati utilizzati alcuni caratteri fisici che si riscontrano in alcuni lipoidi e precisamente la proprietà che essi hanno di dare origine alle cosidette formazioni mieliniche e il modo di comportarsi verso la luce polarizzata.

E. Albrecht[2]) si è specialmente occupato della distribuzione delle sostanze mieliniche nelle cellule: egli conservando in ambiente sterile ed alla temperatura del corpo organi diversi riuscì a dimostrare ora sottili ora grosse figure mieliniche, distribuite regolarmente nelle cellule; sicchè pensa che nelle cellule viventi trovasi una sostanza la quale è in debole combinazione colle albumine e che da queste se ne separa facilmente. Tali formazioni simili a grasso (fettartige Gebilde) e capaci di dare origine a sostanze mieliniche furono dette dall' *A. liposomi* (Liposomen) e si troverebbero non solo nel protoplasma, ma anche nella membrana nucleare e nel nucleolo.

In seguito a legatura dell' arteria renale ha trovato numerose formazioni mieliniche nel rene e pensa che l' apparente degenerazione grassa sia una degenerazione mielinica.

Launoy[3]) ha riscontrato similmente figure mieliniche nelle cellule epatiche in autolisi, che si mostravano numerose in seguito all' aggiunta di fosforo.

Questo metodo di ricerca però secondo me ha scarsa importanza per studiare la distribuzione dei lipoidi cellulari e ciò per due ragioni: anzitutto la formazione di figure mieliniche si verifica in date condizioni dopo la morte: essendo quindi un fenomeno post-mortale non può affatto illu-

---

[1]) Senza volere entrare nel meccanismo della colorazione, che per alcuni sarebbe un fenomeno fisico e per altri chimico, descriverò tra i processi microchimici anche quelli relativi all' azione delle sostanze coloranti sulle sostanze grasse.

[2]) E. Albrecht, Verh. Anat. Gesellsch. 1902. — Verh. Deut. Pat. Ges. 1902, 1903. — Beiträge path. Anat. Bollinger gewidmet. 1903.

[3]) Launoy, C. R. de la Soc. de Biol. de Paris. 1908.

minarci sulla forma e sulla topografia dei lipoidi nelle cellule. Inoltre le figure mieliniche oltre che coi lipoidi fosforati e con la colesterina, si possono ottenere anche con altre sostanze grasse: a tal proposito NEUBAUER[1]) ha visto che si possono ottenere figure mieliniche con un miscuglio di acido oleico, caprilico o caprico con alcali ed acqua. Lo stesso ho potuto io notare istituendo delle ricerche con olio d'uliva rancido e carbonato di potassa.

Come sopra ho detto a proposito dei mezzi microfisici escogitati per lo studio dei lipoidi cellulari va menzionato quello relativo al loro modo di comportarsi all' esame colla luce polarizzata.

DARESTE[2]) sin dal 1866 trovò in alcuni organi delle gocciole birifrangenti e presentanti il carattere ottico della croce di polarizzazione: questo autore credette trattarsi di amido.

DASTRE[3]) cercò di dimostrare che le lecitine presentano il carattere ottico della croce di polarizzazione: infatti secondo questo autore se si evapora in parte il solvente di una soluzione di lecitina e si osserva la preparazione in una goccia di glicerina col microscopio polarizzatore si notano degli sferoidi, presentanti il fenomeno della croce. DASTRE però fa notare che tra le sostanze solubili in etere ed in alcool caldo oltre la lecitina anche l'oleato di soda si comporta allo stesso modo verso la luce polarizzata. Egli poi ha ricercato e trovato gocciole che godono di tale carattere ottico nel vitello dell'uovo.

KAISERLING e ORGLER[4]) hanno cercato di studiare la distribuzione di gocciole, presentanti il fenomeno della birifrangenza in parecchi organi normali e patologici: a tale scopo questi autori si servono di preparati freschi ottenuti per strisciamento ed osservati col microscopio polarizzatore.

MULON[5]) ha studiato anche la distribuzione di gocciole, presentanti il fenomeno ottico della croce e della birifrangenza nella corteccia surrenale: riguardo alle modalità tecniche egli così si esprime: »Sur de coupes fraiches faites par congélation et examinées immédiatement dans la lumière polarisée, les nicols étant croisés, tout reste obscur. Au bout de quelques minutes, au fur et à mesure que les tissus subissent une légère dessiccation, les corpuscules birefrangentes en croix apparaissent«.

Si comprende facilmente che, perchè tale metodo, abbia un certo valore pratico, sia necessario stabilire delle prove di controllo come: la

1) NEUBAUER, Zeitschr. f. Anal. Chemie.
2) DARESTE Citato da MULON.
3) DASTRE, Thèse. Paris 1876.
4) KAISERLING und ORGLER, Virchows Archiv. 1902.
5) MULON, C. R. de la Soc. de Biol. de Paris. 1903.

solubilità delle gocciole nei solventi dei grassi, il loro modo di comportarsi verso il tetrossido di osmio, il Sudan, lo Scharlach ecc. Però bisogna notare che, se da una parte tali prove di controllo, se negative, ci fanno escludere di aver che fare con sostanze non grasse e che pur presentano gli stessi fenomeni ottici, d'altra parte non è possibile stabilire con sicurezza che si tratti di sostanze lipoidi (lecitina, mielina ecc.), quando riescono positive. Infatti alcuni saponi e forse anche altre sostanze grasse, osservate in date condizioni, si comportano nella stessa maniera.

B. Metodi microchimici.

1. Colorazioni vitali e sopravitali.

Parecchi autori hanno utilizzato per la distribuzione di sostanze lipoidi nelle cellule la colorazione vitale o sopravitale. Dalle ricerche di Pfeffer[1]) e di Overton[2]) risulta che le colorazioni vitali son dovute esclusivamente ai colori basici di anilina: quest' ultimo autore poi ammette che la penetrazione di sostanze coloranti nelle cellule sia dovuta alla loro solubilità nei lipoidi.

Schmidt[3]), ispirandosi a questi concetti, osservò che il bleu di metilene che è assorbito dall' epitelio intestinale si raccoglie in granuli che topograficamente corrispondono ai granuli di grasso che si raccolgono nelle cellule durante l'assorbimento di questa sostanza. Infine, senza dilungarmi, dirò che oggi parecchi autori ammettono, che le colorazioni vitali o sopravitali ottenute col rosso-neutro, col bleu di metilene, col brillant-cresyl-blau siano dovute ai lipoidi cellulari e specialmente alla lecitina ed alla colesterina. Tale modo di vedere, come è facile comprendere, è un corollario diretto della teoria di Overton-Mayer. Io non credo di poter condividere questo modo di pensare e per parecchie ragioni: Anzitutto è noto che colle colorazioni vitali si mettono in evidenza molto bene le granulazioni delle Mastzellen di Ehrlich; orbene tali granulazioni non presentano nessun carattere attribuito ai lipoidi; così essi sono insolubili in alcool, etere, cloroformio, benzolo ecc., non reagiscono affatto con O_sO_4, non si colorano col Sudan III e collo Scharlach R. Lo stesso si può ripetere per i corpi di Kurloff-Cesaris-Demel, che si riscontrano nei mononucleati della cavia. Similmente nelle piante si colorano i granuli di aleurone, e poi anche alcune granulazioni dei Protisti (volutina), che secondo Mayer[4]) sarebbero combinazioni di acido nucleinico.

---

[1]) Pfeffer. Citato da Höber.

[2]) Overton, Vierteljarschrift d. Naturforscherges. Zürich. 1895—1899. Loc. cit.

[3]) Schmidt, Pflügers Archiv. 1906.

[4]) Mayer, Bot. Zeitung 1904.

Io ho voluto sperimentare l'azione di alcuni colori sopra parecchie sostanze e realmente ho visto che la lecitina, sospesa in soluzione fisiologica si colora col rosso neutro, col bleu di metilene, col brillant-cresyl blau; d'altra parte però parecchi proteidi si colorano con queste sostanze intensamente. Mescolando un emulzione di lecitina con proteidi si vede che la sostanza colorante si distribuisce in maniera ineguale in modo che mentre il lipoide prende una tinta leggiera il proteide si colora intensamente. Inoltre alcuni colori vitali e specialmente il brillant-cresyl-blau si comportano diversamente a seconda della reazione delle sostanze: infatti esso colora i corpi che hanno reazione acida in bleu intenso; così vediamo intensamente colorati le acido-albumine, le nucleine, l'acido urico, gli urati ecc. Sicchè come si vede la questione è abbastanza complessa ed è arbitrario volere ammettere che le colorazioni vitali siano dovute solo alle sostanze lipoidi.

* * *

2. Azione del tetrossido di osmio (O_sO_4) sui grassi e sui lipoidi.

Alcuni autori hanno creduto potere differenziare nelle cellule alcuni lipoidi per mezzo dell' O_sO_4. Tale sostanza come è noto fu introdotta nella tecnica microscopica da Max Schultze e fu sempre considerata dagli istologi come il fissatore per eccellenza dei grassi.

Altmann[1]) per il primo incominciò a mettere in dubbio l'unità di reazione dei diversi grassi di fronte al tetrossido di osmio; egli infatti avrebbe visto che la glandola di Harder del coniglio, pur contenendo dei grassi dimostrabili dai caratteri di solubilità, questi non prendevano la tinta nera caratteristica dopo trattamento coll' osmio. Allora questo autore, sperimentando l'azione dell O_sO_4 su diversi grassi è venuto alla conclusione che soltanto l'acido oleico e l'oleina riducono questa sostanza, mentre la stearina, la palmitina ed i rispettivi acidi grassi, i saponi (oleato di soda) rimangono di fronte a questo reattivo indifferenti. Unna[2]) dopo aver notato che il grasso delle glandole sebacee e quello delle glandole sudorifere non si comporta egualmente sotto l'influenza dell' O_sO_4, istituì anch' egli ricerche su campioni di varie sostanze grasse ed ebbe a notare: che l'acido oleico e rispettivamente l'oleina riducono presto e completamente l'O_sO_4, mentre l'acido palmitico l'acido stearico ed i rispettivi trigliceridi lo riducono debolmente e dopo un certo tempo. D'altra parte questo autore afferma che sottoponendo all' azione del

[1]) Altmann, Die Elementarorganismen. 1890.

[2]) Unna, Brit. Journ. of Dermat. 1894. — Ann. de Derm. et de Syph. 1895.

reattivo l'acido palmitico e stearico fusi, essi si comportano come l'acido oleico. In base a questi fatti UNNA crede che il diverso modo di comportarsi dei grassi di fronte all' O_sO_4 sia dovuto ad un fatto fisico e precisamente avrebbero un forte potere riducente i grassi fluidi.

STARKE[1]) distingue due modi d'agire del' O_sO_4 sui grassi per cui questi prendono o una tinta nera oppure una tinta bistre che diventa nera dopo azione dell' alcool: nel primo caso si ha la Fett-Osmium-Reduction, che è propria dell' acido oleico e dell' oleina; nel secondo caso si ha la Alkohol-Osmium-Reduction, che è propria dell' acido palmitico, stearico e dei rispettivi trigliceridi.

HANDWERK[2]) conferma i risultati di STARKE, ma anch' egli tende a credere con UNNA che la differente azione dell' O_sO_4 sia dovuta allo stato fisico dei grassi: infatti secondo l'A. la trioleina congelata non ha azione su questo reattivo.

MANN[3]), LEDERMANN[4]) confermano i risultati di STARKE.

MULON[5]) istituendo anch' egli delle ricerche su campioni di grassi conclude che la presenza di acido oleico è il solo fattore intrinseco della fissazione e colorazione dei grassi per mezzo dell' O_sO_4, mentre l'acido palmitico e stearico non avrebbero quasi alcuna azione: infatti questo autore avendo avuto occasione di sperimentare sopra un campione di acido palmitico puro dice che »même à l'état de fusion, il n'a jamais montré la moindre coloration microscopique ni macroscopique«. Per ciò che riguarda le lecitine egli aggiunge che essendo queste costituite da grassi poveri in oleina rientrano nella categoria dei grassi poco fissabili dall' O_sO_4 ed a colorazione secondaria.

In base a tali caratteri gli autori francesi e specialmente BERNARD et BIGART[6]) distinguono i grassi in labili e stabili: questi ultimi riducono primieramente l'O_sO_4 e dopo l'azione di questo reattivo si sciolgono poco o nulla in xilolo (grassi stabili), mentre i primi riducono poco o nulla l'O_sO_4 e dopo osmizzazione si sciolgono in xilolo, ma non in etere di petrolio (PLECNIK[7]): le lecitine apparterrebbero a quest' ultima categoria.

Recentemente LOMBARDO[8]) ha istituito delle ricerche dettagliate

---

1) STARKE, Arch. f. Anat. und Phys. 1895.
2) HANDWERK, Zeitschr. f. wiss. Mikr. 1898.
3) MANN, Physiological Histology.
4) LEDERMANN, Arch. f. Derm. und Syph. 1901.
5) MULON, Bibl. Anat. T. XIII.
6) BERNARD et BIGART, C. R. de la Soc. de Biol. 1902—1903.
7) PLECNIK, Arch. f. Mikr. Anat. 1902.
8) LOMBARDO, Lo Sperimentale. 1906.

sull' azione dei diversi reattivi noti dei grassi, giungendo a risultati differenti in parte da quelli degli autori francesi: infatti egli avrebbe visto che la lecitina annerisce rapidamente in 5 minuti dopo essere stata trattata coi vapori o colla soluzione al 2% di O_sO_4; col liquido di Flemming annerisce più lentamente.

In conclusione dunque in base alle ricerche della maggior parte degli autori ed in base a ricerche che io stesso ho istituito a tal proposito sulle varie sostanze grasse possiamo conchiudere quanto segue:

a) »L'O_sO_4 è ridotto energicamente dalle sostanze grasse, contenenti un acido grasso della serie etilenica o non satura, $C_nH_{2n-2}O_2$, mentre è ridotto scarsamente dagli acidi grassi saturi, $C_nH_{2n}O_2$. Da ciò se ne deduce naturalmente che a seconda che i lipoidi contengono nella loro molecola un acido grasso della prima o della seconda serie riducono o non energicamente l'O_sO_4. È perciò assolutamente erroneo credere che le lecitine debbano considerarsi come grassi aventi una scarsa azione sull' O_sO_4, perchè una lecitina in cui prevale l'acido oleico da un energica riduzione, mentre un miscuglio di grassi comuni, ma in cui prevale ad: es: l'acido palmitico o stearico, gode invece di una scarsa riduzione. Inoltre è noto che alcuni fosfatidi contengano un acido della serie etilenica.

b) L'opinione di Unna e di qualche altro, seconda la quale l'O_sO_4 si ridurrebbe più o meno energicamente a seconda dello stato fisico del grasso, oltre a non avere una grande importanza pratica non è per nulla avvalorata dalle esperienze istituite da questi autori. Infatti, essendo necessaria per la fusione dei grassi solidi una data temperatura, a questa con molta verosimiglianza dobbiamo attribuire la riduzione energica dell' O_sO_4, perchè come sappiamo un fenomeno chimico è accelerato da un aumento di temperatura.

c) Altre sostanze non grasse possono ridurre più o meno energicamente l'O_sO_4 (aldeidi, alcool ecc.).

3. Azione di alcune sostanze coloranti sui grassi e sui lipoidi.

Tra le sostanze coloranti specifiche dei grassi sono state adoperate a preferenza: la alcanna, il bleu di chinoleina, il Sudan III, lo Scharlach R, il bleu d'indofenolo e recentemente anche il Nilblau-sulphat; secondo Rosenthal[1]) e Fischer[2]) queste sostanze agiscono dissolvendosi nei grassi. Alcuni autori hanno preteso che queste tinte si comportassero

---

[1]) Rosenthal, Verh. d. Deutsch. Path. Ges. München 1899.

[2]) Fischer, Centr. f. allg. Path. u. path. Anat. 1902.

diversamente a seconda dei grassi: così secondo DADDI[1]) mentre il grasso della cellula adiposa si colora in rosso arancio col Sudan III, la mielina assume invece una tinta gialla. Secondo LEDERMANN[2]) e LOMBARDO[3]) i grassi oleici si colorerebbero più intensamente di quelli stearici e palmitici. Secondo CESA-BIANCHI[4]) poi la lecitina col Sudan III si colora più difficilmente e si decolora più facilmente dei grassi comuni.

Oltre a queste tinte specifiche LOISEL[5]) ha sperimentato l'azione di numerose sostanze coloranti verso la lecitina ed il grasso di maiale, trattati precedentemente con formolo al 10%. Tra le sostanze coloranti capaci di differenziare i comuni grassi dalla lecitina, LOISEL cita i seguenti:

Carmin de Grenacher. Lécithine colorée en pourpre clair.
» Graisse: incolore.
Picro-carmin. Lécithine colorée en laque jaune.
» Graisse: incolore.
Cochenille. Lécithine colorée en violet de cobalt.
» Graisse: incolore.
Hématoxyline de Delafield. Lécithine colorée en sépia foncé.
» Graisse: teinté en gris de Payne.
Safranine dans eau anilinée. Lécithine colorée en laque carminée foncée.
» Graisse: laque rose claire.
Violet de genziana dans eau. Lécithine colorée en violet foncé.
» Graisse: incolore.
Bleu polycrome de UNNA. Lécithine colorée en bleu marine foncé.
» Graisse: violet de cobalt.
Bleu de toluidine. Lécithine colorée en outremer foncé.
» Graisse: incolore.
Fuxine acide. Lécithine colorée en pourpre foncé.
» Graisse: incolore.
Vert de méthile. Lécithine colorée en bleu marine ou bleu lumière foncé.
» Graisse: incolore.
Cristal-Violet. Lécithine colorée en violet foncé.
» Graisse: violet clair.

---

[1]) DADDI, Arch. ital. de Biol. 1895.
[2]) LEDERMANN, Arch. f. Derm. u. Syph. 1901.
[3]) LOMBARDO, Lo Sperimentale. 1906.
[4]) CESA-BIANCNI, Int. Mon. f. Anat. u. Phys. 1908.
[5]) LOISEL, C. R. de la Soc. de Biol. 1903.

Orange G. Lécithine colorée en jaune de cadmium foncé.
» Graisse: incolore.
Eosine à l'eau. Lécithine colorée en laque ponceau foncé.
» Graisse: grénadine clair.
Erythrosine. Lécithine colorée en laque carminée foncée.
» Graisse: en laque carminée rose.
Indigo-carmin. Lécithine colorée en vert de chrome.
» Graisse: incolore.

L'uso però di tali sostanze coloranti per differenziare la lecitina dai grassi ha una scarsa importanza pratica, perchè esse oltre alla lecitina colorano numerose altre sostanze, tanto che è necessario come dice Loisel stesso »contrôler les données fournies par les colorants au moyen des dissolvants de la lécithine, tel que le chloroforme et l'alcool chauds«. Ma anche adoperando questa precauzione con ciò non sono nemmeno eliminate alcune cause d'errore come p: es: nel caso in cui la lecitina impregna od avvolge altre sostanze, e questo caso non è raro come vedremo.

* * *

4. Metodo di Weigert.

Com' é noto Weigert ha utilizzato per la colorazione delle guaine mieliniche un metodo fondato sul principio che le lacche cromo-ematossiliniche sono più stabili a contatto della mielina rispetto ad altre formazioni, di maniera che, facendo uso dopo la colorazione di opportune differenzazioni, la mielina rimane colorata in bleu oscuro mentre il resto del tessuto si decolora. Secondo un'opinione piuttosto recente di Weigert[1]) i sali di cromo in questo caso agirebbero a guisa di un ambocettore. Essendo queste le linee generali del metodo è necessario stabilire: 1) Quali tra le sostanze grasse contenute nella mielina, (che è un miscuglio di parecchie sostanze grasse) siano capaci di dare origine alle lacche cromo-ematossiliniche stabili. 2) Se altre sostanze che non siano grasse si comportino allo stesso modo.

Wlassak[2]) ha cercato di rispondere al primo quesito impregnando dei frammenti di carta da sigarette con sostanze pure e trattandole col processo di Weigert: dalle sue esperienze questo autore avrebbe visto che sicuramente il protagono si colora con tale procedimento: crede quindi che la colorazione della mielina col processo Weigert e suoi derivati sia dovuta appunto al protagono, però anche la lecitina si colora con tale

[1]) Weigert, Encykl. d. mikr. Technik. 1903.
[2]) Wlassak, Arch. für Entwicklungsmechanik d. Organismen. 1898.

metodo. Recentemente tale questione è stata ripresa da Lorrain-Smith and W. Mair[1]); questi autori hanno adottato per le loro esperienze il metodo adoperato da Wlassak, impregnando cioè dei pezzetti di carta da sigarette con moltissime sostanze grasse.

I risultati a cui sono giunti i suddetti autori sono i seguenti:

1) L'oleina e l'acido oleico, trattati con una soluzione al 10% di bicromato di potassa alla temperatura di 37° si lasciano colorare col processo Weigert dal 4° al 24° giorno; dopo quest' epoca non si colorano più.

2) Risultati negativi si ottengono con acido palmitico, stearico ecc.

3) Risultati quasi simili a quelli dell' acido oleico ed oleina si hanno mischiando questi con la colesterina in proporzione equimolecolare.

4) Risultati negativi si hanno con la colesterina pura.

5) Risultati dubbii colla lecitina: a tal proposito così si esprimono gli autori: »it is therefore probable that pure lecithin does not readily form a chromium compound which lakes haematoxylin, and that the staining which we obtained was due to the cholesterin content of the lecithin used«.

6) Per quanto riguarda il protagono si accordano con Wlassak.

In conclusione gli autori ammettono che la proprietà di colorarsi col metodo di Weigert è dovuto ai grassi non saturati come l'oleina e l'acido oleico. Thorpe[2]) ha assoggettato al controllo chimico i dati di questi autori per quanto riguarda l'acido oleico e l'oleina: egli ha visto che in un primo tempo sotto l'azione del bicromato si forma una combinazione cromo-oleica, la quale è un poco solubile in alcool e capace di dare origine alla lacca ematossilinica; in seguito prolungando l'azione del reattivo si ha la formazione di acido diossistearico ed in tal caso la lacca ematossilinica non si forma.

Il metodo di Weigert più o meno modificato oltre che per la dimostrazione della guaina mielinica delle fibre nervose è stato adoperato da parecchi autori per la dimostrazione di sostanze grasse in alcuni tessuti. Tra questi autori cito Lewinsohn[3]), Plecnik[4]), Régaud[5]), Bonnamour[6]), Mulon[7]), Ciaccio[8]).

---

1) Lorrain, Smith and Mair, The Journ. of Path. and Bact. 1907, 1908.

2) Thorpe, Journ. of Path. and Bact. 1908.

3) Lewinsohn, Arch. f. Mikr. Technik. Bd. XVIII.

4) Plecnik, Arch. f. Mikr. Techn. Bd. LX. 1902.

5) Regaud, C. R. de la Soc. de Biol. 1901. — C. R. de l'Ass. des Anat. Liège 1903 ecc.

6) Bonnamour, C. R. de l'Ass. des Anat. Montpellier. 1902.

7) Mulon, C. R. de la Soc. de Biol. 1903.

8) C. Ciaccio, Folia haematologica. 1909. — Clinica Chirurgica. 1909.

Lewinsohn si serve del seguente metodo: fissazione per lungo tempo in liquido di Müller; passaggio in alcool senza lavaggio in acqua; inclusione in celloidina; colorazione delle sezioni in ematossilina acetica, trattamento ulteriore con permanganato di potassio, differenzazione in acido ossalico. In tal modo operando questo autore è riuscito a colorare in bleu il grasso delle cellule interstiziali del testicolo.

Plecnik si serve tanto dello stesso procedimento su esposto quanto della colorazione delle sezioni ottenute da pezzi fissate in Müller e sezionati per congelazione. Così l'autore ha visto che in entrambi i casi il grasso delle cellule cortico-surrenali prende una tinta bleu, mentre il grasso subepicardiale e quello di reni con degenerazione grassa da avvelenamento per fosforo non danno alcuna colorazione sulle sezioni ottenute per congelamento e tanto meno dopo l'inclusione in celloidina.

Régaud e con lui Bonnamour, Mulon si servono del seguente procedimento: Fissazione in liquido di Tellyesniczky; cromizzazione successiva per pochi giorni; lavaggio in acqua; alcooli; xilolo; inclusione in paraffina. Le sezioni sono colorate secondo l'antico procedimento di Weigert, colla differenza che la miscela di ferrocianuro potassico e borace è diluita al decimo. Questi autori affermano di mettere in evidenza un particolare processo di secrezione nel testicolo, ovaja, corteccia surrenale, rene.

Io mi son servito del procedimento sequente: Fissazione in liquido di Ciaccio; cromizzazione per circa una settimana; alcooli; xilolo o solfuro di carbonio; paraffina. Le sezioni sono colorate secondo il procedimento di Pàl con la differenza che la miscela differenziatrice di acido ossalico e solfito potassico è diluita con acqua. Ho adoperato tale procedimento per i tessuti emopoietici ed in un caso di tumore surrenale. Per quanto riguarda la natura della sostanza così messa in evidenza Regaud[1]) così si esprime: »En l'état actuel, rudimentaire, de l'histochimie, la détermination rigoureuse de la nature chimique du produit de sécrétion de l'épithélium séminal du Rat est presque impossible. Cependant une hypothèse s'est imposée à moi depuis quelque temps; comme elle s'accorde bien aves les faits observés, je crois devoir l'exposer. D'après cette hypothèse, ce produit de sécrétion, différent de la graisse ordinaire, appartiendrait au groupe des lécithines.«

In conclusione finora non sappiamo con precisione quali tra le sostanze grasse si mettano in evidenza col metodo di Weigert: ad ogni modo ammesso che questo possa mettere in evidenza i grassi fosforati (fosfatidi) esso per le ricerche citologiche può indurre in errore per il fatto che pa-

---

[1]) Régaud, C. R. de l'Ass. des Anat. Liège 1903.

recchie sostanze non grasse possono dare risultati positivi: infatti con tale metodo si colorano intensamente i globuli rossi, l'emoglobina libera, alcuni nuclei, alcuni granuli di secrezione spesso il nucleolo, le granulazioni delle cellule cromaffini ecc. In altri termini tutte quelle formazioni che hanno una certa affinità per i sali di cromo sono capaci di formare delle lacche cromo-ematossiliniche stabili.

Oltre a questi fatti il metodo può essere fonte di errori per ragioni puramente tecniche: infatti i risultati sono variabili a seconda dei tessuti ed a seconda della durata della cromizzazione, della colorazione e della differenzazione. Perciò se questo metodo ha dato pregevoli risultati per la topografia delle fibre nervose, si comprenderà facilmente che per utilizzarlo ad altri tessuti razionalmente, è necessario istituire delle prove di controllo.

5. Trattamento coll'O_sO_4 di tessuti cromizzati.

Come è noto questo procedimento è stato adoperato con molto successo da Marchi per lo studio delle fibre nervose nei primi stadii della degenerazione: il metodo consiste nel trattare i pezzi fissati per alcuni giorni in liquido di Müller con una miscela di bicromato e di tetrossido di osmio e quindi i soliti trattamenti successivi fino all' inclusione in celloidina. Le fibre nervose normali con tale processo mostrano la guaina mielinica colorata in grigio-chiaro, mentre nei processi degenerativi si notano dei granuli e delle gocciole nere. Ciò è stato spiegato dagli autori quasi concordemente col fatto che il protagono e la lecitina trattati col bicromato non riducono l'O_sO_4, mentre questo è ridotto dagli acidi grassi che originano dallo sdoppiamento di questi lipoidi.

Azoulay[1]) segue un altro processo: egli tratta le sezioni dalla celloidina di pezzi fissati in Müller con O_sO_4 quindi con un agente riduttore: in tal modo le guaine nervose mieliniche normali prendono una tinta nera.

Wittmak[2]), Alagna[3]) hanno adoperato un procedimento simile per gli elementi nervosi dell' orecchio interno.

Plecnik[4]) tratta le sezioni in celloidina di pezzi fissati in Müller colla miscela di Altmann per 48 h. alla temperatura di 38° ed osserva che mentre il grasso surrenale si colora in nero nessun risultato si ottiene col grasso subepicardiale e quello di reni con degenerazione grassa da fosforo.

---

[1]) Azoulay. V. Traité d'Hist. path. de Cornil et Ranvier. Paris 1907.

[2]) Wittmak, Zeitschr. f. Ohrenheilk. 1906.

[3]) Alagna, Ibid. 1909.

[4]) Plecnik, Arch. f. Mikr. Anat. Bd. LX. 1902.

6. Ricerca dei lipoidi colle prove microchimiche del fosforo.

Si è cercato anche di mettere in evidenza i lipoidi fosforati, utilizzando la prova microchimica per il fosforo, proposta dapprima da Lilienfeld e Monti, poi modificata da Pollacci e da Macallum. Tentativi di questo genere furono fatti specialmente da Macallum[1]), da Welmans[2]), da Russo e suoi allievi[3]).

Disgraziamente però i risultati di queste ricerche sono privi di valore, perchè oramai è sufficientemente dimostrato che i su accennati metodi per il fosforo non sono attendibili.

* * *

Metodi personali.

Come abbiamo visto innanzi il metodo Weigert si basa su due principii fondamentali:

1. Che la mielina dopo trattamento con sali di cromo acquista proprietà tali per cui è dimostrabile anche sulle sezioni di pezzi inclusi in celloidina od in paraffina.

2. Che la lacca cromo-ematossilinica o cromo-cupro-ematossilinica è più stabile per la mielina.

Io per la ricerca dei lipoidi utilizzo appunto il primo di questi principii: ciò ammesso metto in evidenza, nelle sezioni di pezzi inclusi in paraffina, queste sostanze con i colori specifici dei grassi come il Sudan III, lo Scharlach R ecc.

Prima di passare ai dettagli del metodo, che del resto ho già esposto in altri lavori[4]), cercherò di indagare con ricerche sperimentali quali tra le sostanze grasse godono della proprietà ora accennata. A tale scopo ho sperimentato su campioni di grassi puri o su miscugli di questi e cioè:

a) acido oleico; oleina; olio di mandorle; olio di ulive;

b) acido stearico; acido palmitico; palmitina; stearina; grasso di bue e di majale; burro; latte;

---

[1]) Macallum, Ergb. d. Phys. 1908.

[2]) Welmans, Citato da Czapec in Biochemie der Pflanzen. Jena 1905.

[3]) Russo, Boll, dell' Acc. Gioenia di Sc. Nat. in Catania 1906.

[4]) C. Ciaccio, Folia haematologica. 1909. — Anat. Anzeiger 1909. — Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. 1909. — Pathologica 1910.

c) lecitina, estratta dall' uovo, dai semi, dalle capsule surrenali; protagono, cefalina;

d) colesterina, eteri di colesterina[1]).

Di tali sostanze dopo trattamento con bicromato di potassa da 5 a 30 giorni alla temperatura di 25°—30°, quelle del gruppo b) e del gruppo d) non presentano modificazioni apprezzabili; conservando i loro caratteri di solubilità.

Al contrario si rilevano modificazioni degne di nota nelle sostanze del gruppo a) ed in quelle del gruppo c), modificazioni che cercherò di esporre sommariamente:

1. Trattando l'acido oleico, l'oleina o l'olio d' uliva con una soluzione di bicromato di potassa al 5%, acidificata o non con acido acetico, dopo parecchi giorni vediamo che il liquido oleoso contiene in sospensione una sostanza bianco-grigiastra in quantità scarsa. Osservando al microscopio una goccia di questo materiale si notano delle goccioline, delle massette irregolari bianco-grigiastre, scarsi granuli o forme cristalline di colorito giallo-bruno: le goccioline si mostrano solubili in tutti i solventi dei grassi; le massette bianco-grigiastre sono poco solubili in alcool ed etere freddi, solubili in questi solventi caldi non chè in cloroformio, solfuro di carbonio, xilolo; i granuli e le forme cristalline bruni si mostrano insolubili. Se si colora col Sudan il materiale suddetto strisciato sopra una lastrina vediamo che le goccioline assumono rapidamente una tinta rosso- arancio; le massette grigiastre assumono lentamente una tinta orange; i granuli ed i cristalli bruni rimangono indifferenti. Se adoperiamo il Sudan dopo trattamento del materiale con xilolo o cloroformio si ottengono risultati negativi, mentre in queste condizioni col metodo Weigert-Pal i granuli e le forme cristalline assumono una tinta bleu-oscura.

2. Se si istituiscono ricerche analoghe con lipoidi fosforati puri, strisciati su vetrini senz' altro oppure emulsionati con soluzione di $NaCl$ a 9%, osserviamo quanto segue:

Dopo una cromizzazione di qualche ora i lipoidi perdono la proprietà di emulsionarsi, però se vengono sottoposti ad un lavaggio prolungato ed abbondante in H_2O possono riprendere in parte tale proprietà. Dopo 24 a 48 ore di cromizzazione non solo perdono la proprietà di emulsionarsi anche dopo un lavaggio prolungato, ma si mostrano insolubili in alcool

[1]) Come prodotti puri ho adoperato quelli della casa Merk, purificandoli ulteriormente, oppure mi son servito di prodotti da me preparati specialmente per la lecitina, il protagono, la cefalina e la mielina.

a 95° ed assoluto freddo; sono solubili però in alcool caldo, in cloroformio, in solfuro di carbonio, in xilolo ecc.

Dopo 5—7 giorni di cromizzazione le goccioline lipoidi assumono una tinta gialletta che persiste anche dopo lavaggio abbondante e si mostrano insolubili in alcool, in etere, in cloroformio, in solfuro di carbonio, in xilolo, in etere di petrolio, in trementina e financo in cloroformio a 37° per parecchie ore. Da queste esperienze si rileva che »la solubilità dei lipoidi diminuisce a misura che aumenta il tempo della cromizzazione«.

Il processo è accelerato se alla soluzione di bicromato si aggiunge un acido (acetico, formico); il processo è anche notevolmente accelerato a misura che aumenta la temperatura; dopo 48 ore circa di cromizzazione a 37° a 40° i lipoidi si mostrano insolubili nei solventi. Non si notano differenze apprezzabili, adoperando una soluzione di acido cromico invece di quella di bicromato oppure trattando i lipoidi con formolo (10%), prima della cromizzazione oppure con miscele di formolo e bicromato acidificate o non.

Ciò stabilito per i lipoidi in generale debbo però rilevare le differenze che presentano alcuni lipoidi rispetto ad altri: così il protagono p. es. acquista i caratteri su esposti dopo la cromizzazione in un tempo minore che la lecitina dell'uovo; similmente delle differenze si notano tra i fosfatidi provenienti da tessuti diversi.

Un punto poi della massima importanza sul quale è fondato il mio processo istochimico per la dimostrazione dei lipoidi consiste, come ho accennato in principio, nella possibilità di poter colorare queste sostanze, dopo cromizzazione, con le tinte elettive dei grassi come il Sudan III, lo Scharlach R, il bleu d'Indofenolo, il bleu di Chinoleina, il solfato di Nilblau e ciò anche dopo aver sottoposto i lipoidi cromizzati all' azione dei solventi.

* * *

Dopo l'esposizione di questi fatti sarebbe necessario stabilire il meccanismo col quale i sali di cromo esercitano la loro azione sui lipoidi:

Per il momento non potrei risolvere esaurientemente tale questione: però in base a parecchi fatti sono portato a pensare che si tratti di un fenomeno di precipitazione o di coagulazione che i sali di cromo esercitano sui lipoidi. Infatti è noto che i lipoidi come la lecitina ed in genere i fosfatidi siano dei colloidi idrofili, i quali secondo le ricerche di Porges e Neubauer[1]) e Iscovesco[2]) precipitano sotto l'azione di varii elettroliti e colloidi.

[1]) Porges, Neubauer, Bioch. Zeitschr. 1907.

[2]) Iscovesco, C. R. de la Soc. de Biol. 1907—1908. — Journ. de Phys. et de Path. générale. 1908.

Esperienze da me istituite mi confermano in questo ordine di idee: i sali di cromo, sebbene lentamente, precipitano i fosfatidi emulsionati, e dopo un certo tempo li rendono non più emulsionabili e successivamente insolubili nei solventi dei grassi.

Guardata la questione da tale punto di vista ne deriva che forse altre sostanze grasse che non siano i fosfatidi, ma che abbiano proprietà di colloidi idrofili possano comportarsi alla stessa maniera.

Ad ogni modo per non pregiudicare sulla natura chimica intima delle sostanze grasse, messe in evidenza coi miei metodi mi servirò nel corso di questo lavoro del vocabolo lipoidi.

* * *

Metodo 1.

Pezzetti di tessuti di sottile spessore (qualche millimetro) sono fissati in liquido di Ciaccio per 24 a 48 ore:

Bicromato di potassa al 5% cm³ 100
Formolo (sol. 40%) cm³ 20
Acido formico puro 10 a 15 goccie
oppure Acido acetico cm³ 5

I pezzi conservati in formolo si trattano come se fossero freschi. Buoni risultati si ottengono anche con la fissazione in liquido di Zenker, di Foà, di Helly, di Bouin.

Dal liquido fissatore i pezzi si trasportano in una soluzione di bicromato di potassa al 3% per poco più una settimana alla temperatura della stanza; mentre nei mesi caldi o alla temperatura di 37° sono sufficienti 6 a 7 giorni. Dopo la cromizzazione: lavaggio in acqua corrente per 24 ore; 12 ore in alcool a 70°; 6 ore in alcool a 95°; 1 o 2 ore in alcool assoluto; 1 ora in alcool assoluto + solfuro di carbonio; 1 ora in solfuro di carbonio puro; 1 a 2 ore in soluzione satura di paraffina (fusibile a 60°) in solfuro di carbonio alla temperatura di 37° a 40°; 1 ora in paraffina fusibile a 50°–52°; ½ ora in paraffina fusibile a 58°. — (Questo è il procedimento che seguo ordinariamente, ma non è indispensabile, perchè i pezzi possono anche soggiornare più a lungo in alcool e nel rischiarante e perchè anche al solfuro di carbonio si può sostituire lo xilolo, il cloroformio ecc.)

Le sezioni sciolte oppure appiccicate sui vetrini coprioggetti col processo di Henneguy[1]) vengono liberate dalla paraffina e passate attraverso la serie degli alcooli; dall' alcool a 70° le sezioni si passano in una so-

[1]) Si scioglie un piccolo frammento di gelatina in H_2O distillata tiepida e si aggiungono quindi poche goccie di una soluzione di bicromato di potassa.

luzione satura in alcool a 80° a 85° di Sudan III per 30 a 45 minuti e preferibilmente alla temperatura di 25° a 30°. Il Sudan può essere sostituito, ma con minore vantaggio dallo Scharlach R, Indofenolo, Nilblau; in ogni caso è utile che la soluzione colorante sia mantenuta alla stufa; nel momento di adoperarla si lascia raffreddare e si filtra, mantenendo le sezioni in recipienti ben chiusi.

Dopo la colorazione, le sezioni vanno decolorate in alcool a 50°, agitandole in questo, finchè la parte del vetrino libera dalle sezione, guardata per trasparenza apparisce incolora. Dopo abbondante lavaggio in H_2O distillata si procede ad una colorazione di contrasto con:

a) emallume od emateina, seguita o non da una debole colorazione con verde luce.

b) con Wasser-blaü o kristall-violett.

c) con ematossilina ferrica di Heidenhain.

Dopo lavaggio in H_2O distillata inclusione in gomma-sciroppo di Apathy.

Metodo 2.

Fissazione e cromizzazione come nel metodo 1; passaggio dei pezzi cromizzati per 48 a 72 ore nella seguente miscela:

Bicromato di potassa al 5% cc. 15
Acido osmico all' 1% cc. 10.

Dopo di che, lavaggio in acqua corrente per 24 ore e trattamento ulteriore como nel metodo 1.

Metodo 3.

Fissazione per 3 a 4 giorni nella miscela seguente:

Bicromato di potassa al 5% cc. 15
Acido osmico all' 1% cc. 10
Acido formico goccie 1 o 2.

Cromizzazione successiva per 4 a 5 giorni; lavaggio in H_2O corrente e trattamento ulteriore come per i metodi precedenti. (Questo metodo è da preferirsi al metodo 2).

* * *

Col metodo 1. i lipoidi assumono una tinta orange o rosso-aranciata dopo l'azione del Sudan III, mentre al posto dei grassi comuni si trovano dei vacuoli; l'aspetto sotto il quale si presentano i lipoidi è vario e cioè: a) sotto forma di granuli di grandezza differenti e colorati uniformemente; b) sotto forma di vescicole in cui la periferia è più colorata del centro;

c) sotto forma di una sostanza apparentemente omogenea diffusa nel protoplasma cellulare ad eccezione di un orlo periferico; d) finalmente i lipoidi sono legati più o meno intimamente con altri materiali metaplasmatici come pigmento, speciali formazioni protoplasmatiche (granuli di Altmann, mitocondrii ecc.).

Coi metodi 2. e 3. i grassi comuni assumono una tinta nera, mentre i lipoidi prendono una tinta bruna o grigio-bruna; i primi dopo colorazione successiva con Sudan non assumono affatto questo colore, mentre i secondi in gran parte assumono una tinta rosso-bruna. Debbo notare però che alcuni granuli o gocciole pur assumendo una tinta bruna coi procedimenti suddetti, non si lasciano colorare dal Sudan: si tratta forse in questo caso di sostanze, riducenti l' O_sO_4 e differenti dai grassi? Pare di no perchè se trattiamo le sezioni con essenza di trementina alla temperatura di 37° e per parecchie ore tutte le formazioni sia grasse che lipoidi scompajono, ed in tal caso scompajono anche le formazioni in parola; mentre poi non scompajono altre sostanze che, come l'adrenalina, sono capaci di ridurre il tetrossido di osmio. Si tratta adunque di una sostanza grassa; ma di che natura? Dopo numerose prove ed osservazioni mi son fatta la convinzione che si trattasse di colesterina, infatti questa sostanza riduce poco le soluzione osmiche e non si lascia colorare dalle sostanze coloranti specifiche dei grassi, fatti questi già rilevati dagli autori e recentemente anche da Lombardo e che io accetto pienamente. Bisogna osservare d'altra parte che piuttosto raramente ho potuto notare questa varietà di lipoide, forse perchè in genere essendo mescolato con altri questi ne mascherano la presenza.

In conclusione dunque con questi metodi 2. e 3. noi, fino ad un certo punto però, possiamo differenziare i grassi dai lipoidi; dico fino ad un certo punto, perchè in molti casi essendo i grassi ed i lipoidi insieme associati, predomina sempre la tinta nera data dall' O_sO_4: infatti in parecchi casi il grasso di colorito nero corrisponde non solo alle formazioni che col 1. metodo appaiono come vacuoli, ma anche ad alcune gocciole, che collo stesso procedimento si lasciano colorare solo alla periferia.

In conclusione adoperando con discernimento questi tre metodi possiamo ottenere risultati vantaggiosi per lo studio del metabolismo delle sostanze grasse.

Ho tentato anche di adoperare tali procedimenti per il sangue e credo che non sia privo d'interesse indicare sommariamente le modalità tecniche [1]).

---

[1]) C. Ciaccio, Rivista di Microscopia e Chimica Clinica. 1910.

Se si fissa direttamente il sangue strisciato sulle lastrine col liquido di Ciaccio, sebbene si ottengano buoni risultati per i lipoidi dei leucociti e delle piastrine, pure il metodo non è da consigliarsi per la notevole emolisi che si produce. Si può però riparare a questo inconveniente fissando il sangue ai vapori di formolo per 5 minuti, e poscia: 1) trattamento con liquido di Ciaccio per 24 ore, avendo cura di avvolgere le lastrine con carta bibula; 2) trattamento con bicromato di potassa per 2 o 3 giorni, lavaggio, serie degli alcooli, xilolo; 3) indi alcool assoluto, alcool a 90°; alcool a 70°, colorazione con Sudan III ed emateina ecc. Ottimi risultati si ottengono fissando le lastrine nel liquido esposto nel 3. metodo per 24 ore e successiva cromizzazione per 24 ore: in tal caso le sezioni possono essere colorate col Sudan III sia dopo un abbondante lavaggio in acqua, sia dopo un trattamento successivo con alcool e xilolo.

* * *

Come esporrò nel testo a me pare che alcuni costituenti del protoplasma e che vanno intese col nome di protoplasma superiore (Prenant) come: mitocondrii, condriomiti (Benda-Meves) ecc. siano in intimo rapporto coi lipoidi. Per mettere in evidenza tali formazioni dopo opportuni controlli coi metodi suggeriti da Benda, Meves, Van der Stricht, mi son servito di alcuni processi di colorazione, che mentre da una parte mettono in evidenza molto nettamente le strutture suddette, d'altra parte permettono fino ad un certo punto di studiare i loro rapporti coi lipoidi nettamente sudanofili.

Metodo 1 A.

Le sezioni trattate secondo il metodo 1. dopo colorazione con Sudan e successivo lavaggio in alcool a 50° ed in acqua distillata si passano in una soluzione al 4% di allume ferrico per 24 ore; indi dopo abbondante lavaggio in acqua si passano in una soluzione acquosa di ematossilina all' 1% per 24 ore; infine differenziamento in allume ferrico al $^1/_2$%, lavaggio abbondante in acqua distillata, inclusione in gomma sciroppo di Apathy.

Con tale procedimento si colorano bene i mitocondrii come si può rilevare praticando il metodo su sezioni di testicolo di topo; in tale materiale si ottengono infatti figure identiche a quelle disegnate da Benda nell' »Ergebnisse di Merkel und Bonnet del 1902«. Se si istituiscono dei confronti tra le sezioni colorate con questo procedimento e quelle colorate con Sudan-Emateina si vede come alcuni lipoidi conservano la loro tinta rosso-aranciata caratteristica; altri acquistano una tinta grigio-rosa; altri infine una tinta violetta o nera. Bisogna però notare che con questo metodo

anche i granuli di secrezione, almeno in alcuni casi, si colorano in azzurro-nero. L'importanza del metodo però risiede in una giusta differenzazione, che si può ottenere controllandola al microscopio.

Metodo 1 B.

È un derivato dei metodi di ALTMANN, GALEOTTI, SCHRIDDE, che dà risultati costanti ed è di una grande semplicità tecnica. Le sezioni ottenute col metodo 1. e liberate dalla paraffina, si passano nella serie degli alcooli ed in H_2O; indi colorazione in soluzione satura di fuxina acida in acqua di anilina per 24—48 ore alla temperatura di 30° a 35°; decolorazione in:

soluzione satura di acido picrico }
Alcool a 95° } anaparti;

lavaggio in alcool a 95°; colorazione di contrasto con verde-jodo in soluzione all' 1% in alcool a 50° per 10 minuti circa; indi serie degli alcooli, xilolo, balsamo neutro del GRÜBLER. (In alcool assoluto le sezioni si possono tenere abbastanza, senza che si scolorino).

Con tale procedimento i nuclei si colorano in verde-smeraldo o in bleu, forse a seconda della loro funzionalità, il nucleolo in rosso violetto; il fondo del protoplasma in verdastro; i lipoidi appaiono alcuni di colorito gialletto o leggermente rosa, altri di colorito rosso-rubino. Infine pare che le formazioni mitocondriali si colorino abbastanza intensamente in rosso-rubino; i granuli di secrezione prendono a volte una tinta rosa, a volte una tinta violacea.

Sebbene questo metodo riesca di una finezza ed eleganza squisita, pure a me pare che sia da preferire il precedente per studiare i rapporti tra i lipoidi e le formazioni protoplasmatiche sopra accennate, tanto più che parecchi autori, tra cui anche lo stesso MEVES[1]) recentemente hanno stimato adatta l'ematossilina ferrica per la dimostrazione dei mitocondrii.

Distribuzione dei lipoidi.

In una mia nota recente[2]) ho accennato alla distribuzione dei lipoidi in diverse cellule e tessuti, riunendo in uno stesso gruppo sotto il nome di »cellule a prevalente metabolismo lipo-lipoide«: a) cellule di riserva animali e vegetali; b) le cellule lecitiniche (CIACCIO); c) le cellule

---

1) MEVES Arch. f. Mikr. Anat. 1909.
2) C. CIACCIO, Anat. Anzeiger. Bd. XXXV. 1909.

cortico-surrenali; d) le cellule interstiziali degli organi genitali (testicolo ed ovajo).

In questo lavoro preferisco trattare la distribuzione in varie cellule dei lipoidi, senza però stabilire delle categorie speciali.

Cap. 1. Cellule del tessuto adiposo — Cellule lecitiniche (Ciaccio).

Per quanto riguarda il significato morfologico del tessuto adiposo gli istologi seguono due correnti principali: alcuni come: Kölliker[1]), Toldt[2]), Ranvier)[3], Stöhr[4]). Löwenthal[5]), Verebely[6]) attribuiscono a questo tessuto caratteri di specificità; altri come Flemming[7]), Poljakow[8]). ammettono che la cellula adiposa altro non sia che una commune cellula mesenchimale contenente grasso.

In appoggio alla prima teoria stanno dei fatti abbastanza importanti: anzitutto la distribuzione, che assumono i lobuli adiposi, è non solo fissa e costante, ma è anche caratteristica per una data specie animale. Esempii classici di questo genere riscontriamo a preferenza negli organi grassosi dei roditori ed in vertebrati inferiori come gli anfibii ed i pesci. Dal punto di vista embriologico sono molto suggestive le ricerche di Kölliker e di Toldt, i quali hanno trovato che il tessuto adiposo origina da ammassi cellulari a topografia costante — campi germinativi del grasso (Toldt); organi primitivi dei lobuli grassosi (Kölliker).

Secondo Kölliker gli organi primitivi del grasso prendono origine da accumuli di cellule connettivali stellate, le quali a poco a poco diventano rotonde, con nucleo grande e con protoplasma abbondante: tali elementi sono riccamente vascolarizzati. Questo autore annovera anche tra gli organi primitivi del grasso il midollo osseo, il quale, come è noto, dapprima rosso in seguito diventa giallo. Questi organi si sviluppano piuttosto precocemente nel periodo embrionale e secondo Pasini[9]) nel feto umano si trovano »già differenziati a cominciare dal quarto mese della vita intrauterina«.

---

1) Kölliker, Handbuch der Gewebelehre. Bd. I. 1899.
2) Toldt, Sitzungsber. d. math.-naturwiss. Klasse. Wien. LXII.
3) Ranvier. Traité d'Histologie.
4) Stöhr, Trattato d'Istologia. Trad. ital.
5) Löwenthal, Questions d'Histologie. Paris 1901.
6) Verebely, Beit. klin. Chir. Bd. LIV. 1907.
7) Flemming, Arch. f. mikr. Anat. 1876—1879.
8) Poljakow, Ibidem 1888—1895.
9) Pasini, Lo Sperimentale. 1905.

Un' opinione simile manifesta Verebely, il quale afferma che il tessuto adiposo si differenzia nei primi periodi della vita fetale ed appena esso è sviluppato è chiamato ad una vita organica a sè; i lobuli grassosi infatti crescono per attiva proliferazione delle cellule che li costituiscono e non si trovano stadii di passaggio tra le cellule adipose da una parte e le comuni cellule connettivali o le Wanderzellen dall' altra.

Il carattere di specificità del tessuto adiposo viene ancora spinto più oltre dalle ricerche di Ancel et Bouin [1]), almeno per quanto riguarda i corpi grassi degli anfibii: secondo questi autori i corpi grassi dei batraci non sono da considerare come un materiale di riserva per il letargo invernale, ma invece come una porzione indifferenziata della sfera sessuale. Tale opinione secondo gli autori sarebbe appoggiata dallo studio dello sviluppo, dalla ricca vascolarizzazione e dal fatto che i corpi grassi raggiungono il loro più grande sviluppo a primavera nell' epoca dell' attività sessuale.

In appoggio alla seconda teoria starebbe il fatto che specie nei processi infiammatorii le cellule grassose possono trasformarsi in comuni cellule connettivali e forse anche, secondo alcuni, in Wanderzellen ed anche il fatto che cellule del comune connettivo lasso possono trasformarsi in vere cellule adipose per assunzione successiva di grasso.

La questione è abbastanza delicata e difficile a risolvere: da una parte non si può negare l'attendibilità delle ricerche embriologiche di Kölliker, Toldt ed altri; d'altra parte è anche certo che in condizioni patologiche si può assistere alla formazioni di vere e proprie cellule adipose, le quali non originano da cellule adipose preesistenti, ma da cellule connettivali non solo del comune connettivo lasso, ma anche da cellule del reticolo adenoide, che costituisce gli organi linfoidi. Oltre al noto fatto che si verifica normalmente nell' involuzione del timo ho osservato altri fatti che parlano in favore della seconda teoria: Con una certa frequenza ho potuto osservare, specialmente nelle infiammazioni croniche la formazione di vero e proprio tessuto adiposo nelle glandole linfatiche a spese delle cellule fisse del reticolo. Un caso classico del genere è stato da me osservato in una milza, affetta da tubercolosi primitiva: in questo caso la milza presentava dei veri lobuli adiposi di grandezza varia, situati nello spessore del parenchima; il tessuto che costituiva tali lobuli era perfettamente identico al comune tessuto adiposo e presentava come questo tutti i caratteri citologici e microchimici. Potrei moltiplicare gli esempii, ma per non dilungarmi dirò che in generale »qualsiasi cellula connettivale può in date condizioni assumere i caratteri speciali della cellula adiposa«.

---

1) Ancel et Bouin, C. R. d. l'Ass. des Anat. Liège 1903.

Secondo me quindi per quanto riguarda il tessuto adiposo non si può parlare di una specificità assoluta; probabilmente i fatti ammessi da Kölliker, Toldt ed altri debbono mettersi in rapporto con fattori meccanici e chimici a cui vanno incontro alcuni elementi connettivali nel corso dell' ontogenesi, fattori che all' epoca presente non è possibile determinare bene.

Una questione molto importante è quella di stabilire il metabolismo e la funzione della cellula adiposa; tale questione è molto complessa ed ancora non si hanno dati certi sul meccanismo per mezzo del quale la cellula adiposa assume le sostanze grasse e le somministra all' organismo a misura che questo ne abbia bisogno. Esaminiamo intanto i dati che a tale riguardo ci forniscono le ricerche istologiche:

Dalla maggior parte degli istologi si ammette che la cellula adiposa sia un vero elemento glandolare a secrezione interna, il cui compito sarebbe appunto quello di immagazzinare il grasso e di fornirlo all' organismo a misura che questo lo richiegga per la sua funzionalità. Nel trattato di citologia di Prenant a tal proposito si trova scritto: »L'élaboration de la graisse est bien due à un véritable phénomène sécrétoire, dont on est cependant loin de connaître toutes les conditions et toutes les phases«.

La natura glandulare della cellula adiposa trova un sostegno specialmente nelle classiche ricerche di Altmann e dei suoi allievi. Questo elemento cellulare secondo Altmann, Krehl, Metzner[1]) prima che inizii la sua caratteristica funzione è costituito da una cellula a nucleo centrale grosso e provvisto di nucleolo e con protoplasma contenente numerosi granuli elementari »bioblasti di Altmann«, che, come è noto si trovano in un gran numero di cellule, specie glandolari. Questi granuli, secondo i detti autori, rappresentano il substratum su cui il grasso si deposita e forse anche essi effettuano le trasformazioni chimiche delle sostanze grasse a spese di materiali differenti. Come prova di questo fatto si ha che in uno stadio primitivo di funzionalità al posto dei granuli elementari si osservano granuli tingibili in nero od in bruno con O_sO_4, a seconda della natura del grasso fissato; sciogliendo il grasso osmiato con appositi solventi è possibile in questo primo stadio funzionale dimostrare per mezzo della fuxina acida i granuli elementari. A misura che la cellula adiposa procede nella sua funzionalità i granuli grassosi aumentano sempre più di volume e finiscono col confluire in grosse gocciole, le quali confluendo alla loro volta costituiscono una grossa goccia la quale spinge meccanicamente il nucleo alla periferia: in tal modo è costituita la cellula adiposa adulta.

---

[1]) Vedi Prenant, Traité de Cytologie. Paris 1904.

Si è cercato di fornire un' altra prova della natura glandolare della cellula adiposa per mezzo di cambiamenti, che subisce il nucleo di questo elemento; importanti a tal proposito sono le ricerche di UNNA[1]), SACK[2]), RABL[3]): SACK ha specialmente richiamato l'attenzione sopra una caratteristica che hanno le cellule adipose, quella cioè di contenere nel nucleo un vacuolo, e da ciò il nome dato dall' autore di nuclei traforati — Lochkerne. RABL, ritornando sull' argomento, dice che i vacuoli considerati da SACK come endonucleari non sono tali, ma invece sono situati esternamente al nucleo e precisamente in una nicchia profonda dello stesso; tali vacuoli non sarebbero ripieni di un liquido privo di grasso come vorebbe SACK, ma invece da vero e proprio grasso. Nelle cellule adipose atrofiche detti nuclei si trovano raramente, mentre sono frequenti nelle cellule adipose bene sviluppate dell' uomo e degli anfibii, scarsi in quelle dei mammiferi. UNNA non ammette la natura vacuolare di tali formazioni, ma crede che esse siano endonucleari; secondo questo autore esse prendono origine da una specie di favo endonucleare che va mano mano aumentando di volume e nello stesso tempo si riempie di una sostanza simil-proteica, fino a che si stacca completamente dal nucleo; in fondo colle ricerche di UNNA si possono conciliare i dati opposti di SACK e RABL.

Questi fatti a cui ho accennato finora e messi avanti dagli autori in base a ricerche embriologiche, morfologiche e strutturali ci fanno semplicemente intravedere l'importanza della cellula adiposa; essi cioè ci portano ad ammettere la natura glandolare di tale elemento da un punto di vista generale, ma nulla però ci dicono sul meccanismo intimo col quale si verifica la funzione speciale della cellula adiposa. In altri termini sarebbe importante stabilire il meccanismo col quale il grasso entra ed esce dalla cellula adiposa e le variazioni citologiche e possibilmente istochimiche che questo elemento subisce nelle diverse fasi della sua funzionalità. Tale questione non ha sola un' importanza limitata al funzionamento della cellula adiposa, ma come vedremo, essa ha una importanza generale, perchè riguarda il metabolismo dei grassi in genere, questione abbastanza controversa anche nel campo della chimica fisiologica. Troppo lungi mi porterebbe l'esposizione delle teorie riguardanti la formazione del grasso nell' organismo, accennerò semplicemente ai punti fondamentali, riguardanti specialmente i fatti istologici, messi avanti da alcuni autori per mettere in evidenza il modo col quale il grasso immagazzinato

---

[1]) UNNA, Deutsche Medizinalztg. XVII. 1896.

[2]) SACK, Citato da RABL.

[3]) RABL, Arch. f. Mikr. Anat. Bd. XLVII. 1896.

nella cellula adiposa venga somministrato all' organismo a seconda del bisogno.

Riguardo all' entrata del grasso o di sostanze trasformabili in grasso in cellule connettivali più o meno specifiche non sappiamo nulla »e se nessun istologo ha potuto osservare l'ingresso delle goccioline adipose dal contenuto intestinale nelle cellule di quell' epitelio, tanto meno può dirsi qualche cosa di preciso riguardo all' ingresso delle goccioline di grasso circolanti nel sangue dentro gli elementi del tessuto adiposo« (Bottazzi)[1]. Foster[2]) come fatto ipotetico tende ad ammettere che la zona protoplasmatica, che avvolge una cellula adiposa, debba essere di natura speciale e tale da favorire non solo l'assorbimento ma anche la trasformazione degli idrati di carbonio in grasso e viceversa. In conclusione per quanto riguarda la penetrazione del grasso nella cellula adiposa ci troviamo di fronte alle stesse difficoltà che s'incontrano per l'assorbimento di grasso da parte della mucosa intestinale e cioè noi non sappiamo se questo penetra sotto forma di grasso neutro, di sapone o di acido grasso o addirittura sotto forma di albumine o di idrati di carbonio che verrebbero in seguito trasformati in grasso dalla cellula adiposa. Comunque sia, data l'indole del mio lavoro, non è il caso d'insistere sulle opinioni emesse dagli autori a favore di una data dottrina, tanto più che si tratta di semplici ipotesi e accennerò solo ad alcuni fatti di indole istologica diretti a determinare la funzione elementare della cellula adiposa.

Ho accennato sopra alla dottrina emessa da Altmann e dai suoi scolari e che rende responsabili dell' assorbimento, della fissazione e forse anche della trasformazione del grasso i granuli elementari.

Importanti sono gli studii del Poljakow[3]) tendenti a spiegare una fase del metabolismo del grasso e propriamente quello col quale questa sostanza viene ad essere trasportata dalla cellula adiposa al sangue.

Secondo questo autore sono in alcuni casi i leucociti e le cellule fisse del connettivo che assorbono le goccioline di grasso e le trasportano nel sangue. Inoltre egli descrive una specie di cellule a cui da il nome di »Adipophoren-Zellen« sulla cui struttura e funzione così si esprime: »Ausser der Vermittlung der beweglichen kugelförmigen Bindegewebszellen, sowie der Leukozyten, existieren zum Zwecke der Überführung des Fettes aus den Fettzellen ins Blut noch eine andere Art von Überbringern — unbewegliche Zellen mit sehr langen, relativ dicken vielverzweigten Protoplasmafortsätzen, Blutkapillaren und nach kapillaren Venen in Verbindung stehen.

[1]) Bottazzi, Chimica fisiologica. Milano 1898.

[2]) Foster, Citato da Bottazzi.

[3]) Poljakow, loco citato.

Diese sind die fettübertragenden Zellen — die sogenannten Adipophoren. Diese Adipophoren-Zellen ersetzen gewissermaßen die Ausführungsgänge einzelliger Drüsen — der fettbildenden Zellen. Doch ist es bisher nicht gelungen festzustellen, ob die Adipophoren nur bei Inanition des Organismus in dieser Richtung funktionieren, oder vielleicht auch zu jeder andern Zeit, indem sie dann gleichsam wirkliche Ausführungsgänge der Fettzellen (Fettdrüsen) repräsentieren«.

Löwenthal[1]) in seguito a ricerche istituite sul tessuto adiposo sottocutaneo del ratto bianco in ispecial modo, mette in evidenza dei dati, che possono parlare in favore di uno speciale stato funzionale della cellula adiposa. Egli infatti descrive dei lobuli adiposi compatti, vascolarizzati, costituiti di cellule poliedriche, le quali presentano numerose, piccole goccioline sparse nel protoplasma: per tali caratteri queste cellule sono differenziabili da quelle che costituiscono il comune tessuto adiposo.

Merk[2]) dal fatto che nel tessuto grasso in via di sviluppo sono abbondanti le cellule linfoidi, ammette che queste debbano avere una parte importante nel metabolismo del grasso.

Verebely[3]) in alcune ricerche riguardanti la partecipazione del testuso adiposo ai processi cicatriziali delle ferite accenna all' importanza che hanno i leucociti per il trasporto del grasso. E così potrei citare altri autori i quali in conclusione credono che il trasporto del grasso dalle cellule adipose al sangue si estrinseca mediante altri elementi specie mobili. In alcune mie note recenti io ho messo avanti una nuova concezione riguardo alla funzione della cellula adiposa. Secondo me questa ultima va incontro a modificazioni importanti, le quali si rendono particolarmente evidenti in alcune condizioni speciali, nelle quali si esalta la sua funzionalità. Tali modificazioni riguardano la membrana — cuticula lipoide —, il nucleo, il protoplasma; d'altra parte il grasso di riserva va incontro a trasformazioni fisiche e chimiche in base alle quali la cellula adiposa oltre ad emulsionare il grasso fabbrica un lipoide. Inoltre la cellula adiposa in una fase avanzata del suo metabolismo può acquistare un aspetto ed una struttura speciali, accompagnati da modificazioni isto-chimiche caratteristiche: a tali cellule ho dato il nome di — cellule lecitiniche —. Queste cellule possono però avere un'origine diversa e che esporrò dettagliatamente qui appresso. Vediamo adesso come si comporta la cellula adiposa in alcune speciali condizioni:

---

[1]) Loewenthal, loco citato.

[2]) Merk, Vortr. morphol. Ges. Graz 1898. — Biol. Centralbl. Bd. XVIII. 1898.

[3]) Verebely, loco citato.

Anzitutto si notano delle modificazioni durante i processi infiammatorii, in cui si ammette che la cellula adiposa va mano mano acquistando i caratteri di una giovane cellula connettivale; anzi secondo Verebely, come abbiamo visto innanzi le cellule adipose partecipano alla costituzione del tessuto di granulazione.

Molto importanti nella patologia generale della cellula adiposa sono alcune modificazioni a cui questa può andare incontro e che vanno sotto il norme di atrofie. Così si distingue una atrofia semplice, un' atrofia sierosa ed un' atrofia proliferativa — Wucheratrophie di Flemming.

Nella prima forma di atrofia il grasso va scomparendo mano mano dalla cellula adiposa e questa infine acquista l'aspetto di una cellula connettivale ipertrofica con nucleo centrale e protoplasma granuloso.

Nella seconda forma di atrofia al posto del grasso scomparso si osservano spazii ripieni di liquido.

Nella terza forma, ben descritta dal Flemming la cellula diventa dapprima plurinucleata e poi in questa si individualizzano in seguito delle piccole cellule, contenute nella cavità della primitiva cellula adiposa.

Queste forme, intese col nome di atrofie si riscontrano in genere nel dimagramento, dovuto ad inanizione od a malattie esaurienti, la tubercolosi ad es.

Recentemente Franco[1]) ha trovato anche la atrofia proliferativa nel trapianto del tessuto adiposo.

Riguardo alle modificazioni, che eventualmente subisce il grasso nei cosidetti processi di atrofia, prima di scomparire dalle cellula, si sa troppo poco. Infatti per ciò che concerne le modificazioni istochimiche e citologiche minute si può dire che poco o nulla si è aggiunto a quanto aveva già osservato da molto tempo il Virchow[2]). Questi nel suo classico libro sulla patologia cellulare così si esprime: »Se uno diventa magro la membrana si rende meno tesa, non apparendo più così tenue e delicata e divenendo tanto più manifesta e distinta. quanto minore è la copia del grasso, in essa racchiuso. È poi fornita di un manifesto nucleo.« Inoltre da una figura illustrativa si rileva che durante l'atrofia della cellula adiposa nella tubercolosi il grasso si è frammentato in piccole gocciole. Gli Autori che si sono occupati fino ad oggi del metabolismo istochimico della cellula adiposa nulla aggiungono di speciale (Poljakoff-Pasini), solo qualcuno emette delle ipotesi al riguardo. Così Pasini che si è occupato di questo argomento in epoca piuttosto recente descrive le modificazioni a cui va

---

[1]) Franco, Patologica. Anno 1. 1909.

[2]) Virchow, Patologia cellulare. Trad. italiana.

incontro lo cellula adiposa in diversi e successivi stadii di atrofia: Nella maggior parte dei casi si ha scomparsa della grossa goccia di grasso che riempie in condizioni normali la cellula ed in questa non è possibile dimostrare coi comuni metodi di ricerca una sostanza grassa; in pochi casi la grossa goccia si frammenta in goccioline più minute. L'autore trova che nel primo caso, che è il più frequente, al posto del grasso si nota »un grossolano reticolo granuloso, distribuito a formare delle maglie irregolari, tingibile coi colori acidi, e sospeso in una sostanza fluida omogenea, che reagisce male sia alle sostanze acide che alle basiche« e più avanti aggiunge: »Se non abbiamo quindi a nostra disposizione delle reazioni microchimiche, che ci permettono di valutare quale sia la natura della nuova sostanza che sostituisce il grasso, abbiamo nella mancanza improvvisa delle reazioni un criterio sufficiente ed indubbio ad ammettere ch'esso abbia subito una trasformazione«.

Una particolarità notata da più tempo è che nelle cellule adipose in preda ad atrofia si riscontra un lipocromo: Neumann[1]) è riuscito così ad ottenere nelle cellule grassose atrofiche della rana la reazione caratteristica dei lipocromi (colorito bleu violetto con soluzione jodo jodurata).

Knoepfelmacher[2]) ha richiamato l'attenzione sulla presenza di cristalli di bilirubina nelle cellule grassose addominali e mediastiniche dei neonati; egli spiega la presenza di questo pigmento in tali elementi col fatto che gli acidi grassi rappresentano un mezzo solubile per la bilirubina: infatti, aggiunge l'autore, il tessuto sottocutaneo, che è povero di acidi grassi è sempre libero di cristalli di bilirubina.

Ricerche personali.

A. Cellula adiposa.

Prima di passare allo studio del metabolismo generale della cellula adiposa adulta accennerò a quello della cellula giovane, all' inizio della sua funzione: il materiale utilizzato da me a tale scopo è costituito dal tessuto adiposo che avvolge gli organi interni di gattini e cagnolini poco prima della nascita od appena nati.

Gli stadii attraversati da tali elementi possono essere schematizzati nel seguente modo sulla guida di preparati allestiti coi miei metodi: a) In uno stadio quasi iniziale la cellula adiposa si presenta costituita di un grosso nucleo centrale, provvisto di nucleoli e di un protoplasma fornito

---

1) Neumann, Virchows Archiv. Bd. CLXXIV.

2) Knoepfelmacher, Wien. klin. Woch. 1896.

di granuli numerosi e di scarse goccioline. I granuli in maggioranza sono relativamente grossi e rotondi; col metodo 1. appaiono colorati in rosa od orange: inoltre si notano scarsi granuli più piccoli dei precedenti e colorati in rosso- aranciato: le goccioline presentano in maggioranza un alone aranciato ed un centro incoloro. In preparati allestiti col metodo 2. e 3. i granuli grossi appaiono di colorito bruno chiaro, quelli piccoli di colorito bruno scuro e le goccioline di colorito nero e ciò prima della colorazione sol Sudan; dopo l'azione di questa tinta i primi assumono un colorito rosa, i secondi rosso-bruno, le goccioline rimangono nere totalmente oppure tutt' al più possono presentare un sottile orlo periferico rosa. Finalmente in preparati colorati col processo IA) IB) molti granuli assumono la tinta dell' ematossilina ferrica e dalla fuxina acida, mentre le goccioline rimangono incolori.

b) In stadii più avanzati il nucleo diventa sempre più eccentrico, più piccolo, si allunga, diventa tachicromatico: i granuli del protoplasma divengono sempre più rari, mentre le goccioline aumentando di numero e di grandezza finiscono col confluire in una grossa goccia centrale.

A misura che si verificano tali trasformazioni le cellule si provvedono di una membrana che diventa sempre più evidente, grazie alla sua rifrangenza.

In questa descrizione l'attenzione viene principalmente richiamata dai granuli e dalle gocciole. I granuli grossi evidentemente corrispondono a quelli già descritte da Altmann e suoi allievi: in quanto alla loro natura pare che essi risultino di substratum proteico e di un rivestimento lipoide; i granuli piccoli sono di natura lipoide. Infatti osservando dei preparati allestiti con processi che sciolgono le sostanze grasse i granuli grossi sono sempre visibili, ma non assumono affatto alcuna tinta col Sudan; al posto dei granuli piccoli si notano dei vacuoli. Per quanto riguarda le vescicole esse in base al modo di comportarsi sono costituite da grassi comuni, che nelle fasi iniziali sono rivestiti da un contorno di natura lipoide.

* * *

Passiamo ora allo studio della cellula adiposa adulta: Un ottimo materiale per ricerche di tal genere ho trovato specialmente nei corpi grassi inguinali degli anfibii: Esaminando una di tali cellule adipose in una fase di scarsa attività, che si riscontra per lo più alla fine dell' autunno ed al principio dell' inverno notiamo quanto segue:

Ogni cellula si presenta costituita:

a) di una membrana a cui ho dato il nome di cuticula lipoide,

b) di un nucleo eccentrico intorno al quale è disposto un sottile strato di protoplasma,

c) di una grossa goccia di grasso, la quale occupa gran parte dell' elemento cellulare.

La cuticula lipoide si presenta rifrangente, spesso a doppio contorno ed in tal caso ha l'apparenza di una fibra elastica; in preparati allestiti col 1. metodo si presenta tinta omogeneamente in rosa od orange più o meno intenso e nel suo spessore poi presenta degli scarsi granuli rotondi della grandezza di 1 μ circa: di questi alcuni col metodo suddetto assumono una tinta rosso-aranciata, altri invece assumono una tinta più debole, mentre si rendono particolarmente evidènti col processo IA) IB) apparente di colorito nero e rispettivamente rosso; alcuni granuli poi presentano le proprietà dei primi e degli ultimi.

Il nucleo si presenta atrofico ed ipercromatico, col suo grande asse disposto parallelamente alla circonferenza della membrana. Il protoplasma peri-nucleare si presenta finamente granuloso: in esso si riscontrano piccole vescicole grassose e lipoidi e granuli simili a quelli ora descritti nello spessore della cuticula lipoide. La grossa goccia che occupa gran parte della cellula è costituita da un grasso comune che annerisce primieranente con O_sO_4 e non è influenzato affatto dal trattamento coi sali di cromo.

Questi caratteri strutturali, che come sopra ho detto, sono molto netti negli anfibii, sono anche abbastanza chiari nei mammiferi e specialmente adoperando come materiale di ricerca l' epiploon, il midollo osseo od il tessuto grasso che avvolge alcuni organi interni. —Vediamo adesso come si comporta la cellula, adiposa durante la sua attività: a tale scopo si può utilizzare il materiale suddetto in svariate condizioni sia locali che generali e specialmente: nei processi infiammatorii che si svolgono in vicinanza del tessuto adiposo o direttamente in esso; spesso nelle infezioni ed intossicazioni generali; nell' epoca dell' attività sessuale (anfibii); nel midollo osseo durante la sua attività mieloide e finalmente con molta evidenza nel dimagramento qualunque sia la causa che lo produce.

In tali condizioni nella cuticula lipoide i granuli lipoidi e quelli siderofili o fuxinofili aumentano di numero e di grandezza, mentre la membrana va perdendo sempre più la sua rifrangenza e quindi anche la sua individualità. Nelle cellule adipose del midollo osseo del coniglio sono riuscito a mettere in evidenza in alcuni casi nella superficie interna della membrana un collaretto costituito di granuli finissimi, colorabili coll'ematossilina ferrica. Il nucleo aumenta sempre più di volume, tende ad avvicinarsi sempre più al centro della cellula e presenta granuli di cromatina ben evidenti ed un grosso nucleolo.

Il protoplasma aumenta anch' esso in estensione: i granuli fuxinofili e siderofili sono piuttosto numerosi e di grandezza diversa: in alcuni casi essi presentano una disposizione caratterisca e che ho notato specialmente nell' epiploon di cani in preda ad inanizione cronica e cioè tali granuli sono orientati in modo da costituire delle catene simili agli streptococchi (condriomiti?); in altri casi invece di granuli si possono trovare dei bastoncini corti (condrioconti?).

Nello stesso tempo che notiamo queste particolarità di struttura ne notiamo altre non meno importanti e caratteristiche riguardo al metabolismo isto-chimico delle sostanze grasse:

La grossa gocciola adiposa, che nel periodo di scarsa funzionalità abbiamo visto occupare gran parte della cellula, può andare incontro a due processi principali e cioè: o si frammenta in gocciole sempre più piccole, oppure diminuisce di volume a misura che aumenta in estensione il protoplasma. Nel primo caso le singole gocciole possono essere separate tra loro da uno sottile strato di protoplasma e presentano i caratteri istochimici del grasso comune. Nel secondo caso la periferia della gocciola ora si presenta con un contorno regolare ora si presenta con un contorno sfrangiato: in queste ultime condizioni in preparati allestiti col metodo 2. e 3., mentre gran parte delle goccia si presenta di colorito nero, il contorno assume un colorito bruno prima della colorazione col Sudan e rosso-bruno dopo l'uso di questa tinta. Il protoplasma che si trova ad immediato contatto col grasso per lo più presenta caratteri differenti da quello che occupa il resto della cellula: esso cioè si mostra più compatto ed in alcuni casi in esso si riesce a mettere in evidenza un collaretto colorabile coll' ematossilina ferrica.

Nel rimanente protoplasma della cellula adiposa si notano poi gocciole e granuli grassosi che aumentano sempre più con la funzionalità dell' elemento cellulare. I caratteri istochimici di queste formazioni sono i seguenti:

a) In massima parte riducono scarsamente l'O_sO_4 come si può agevolmente vedere in pezzi fissati in questo reattivo e sezionati dopo un semplice lavaggio in H_2O: se al contrario si esaminano le sezioni dopo passaggio in alcool allora appaiono di colorito nero.

b) Col mio metodo 1. si osservano dei vacuoli chiari, delle gocciole in cui il contorno è colorato dal Sudan mentre il centro apparisce chiaro o meno intensamente colorato e finalmente dei granuli intensamente ed uniformemente colorati in rosso-arancio.

In una fase molta avanzata in fine la cellula adiposa si presenta diminuita di volume, con nucleo centrale, con membrana non visibile, con protoplasma relativamente abbondante ed in cui si trovano goc-

ciole e granuli in gran parte di natura lipoide e munerosi granuli fuxinofili o siderofili. In qualche caso poi la cellula si può presentare costituita come un elemento in riposo con la differenza che al posto del grasso comune si riscontra una grossa goccia, avente i caratteri istochimici dei lipoidi: ciò ho osservato qualche volta nei corpi grassi degli anfibii e nel midollo osseo di cavia.

* * *

Dai fatti finora esposti abbiamo appreso così le modificazioni che subisce la cellula adiposa passando da una fase giovane a quella adulta e in questo ultimo caso le modificazione che essa subisce passando da una fase di riposo a quella di attività. Ora ci resta a conoscere un' altra fase non meno importante e cioè il ritorno dallo stadio di attività a quello di riposo. È noto infatti che nei casi in cui un animale fortemente dimagrato viene alimentato abbondantemente il tessuto adiposo va mano mano acquistando i suoi caratteri ordinarii. Quali sono in tal caso le modificazioni citologiche ed istochimiche a cui va incontro la cellula adiposa?

In casi di dimagramento molto avanzato o di infiammazioni croniche del tessuto adiposo la cellula perde sempre più i suoi caratteri, i grassi ed i lipoidi scompaiono mano mano ed allora ci troviamo di fronte ad un elemento cellulare che presenta tutti i caratteri di un cellula adiposa embrionale. Essa quindi è rappresentata da un elemento di forma per lo più rotonda od ovale con nucleo centrale grosso e provvisto di nucleolo con protoplasma costituito in massima parte di grossi granuli rotondi. Tali granuli presentano egualmente i caratteri descritti a proposito delle cellule adipose giovani: si colorano elettivamente con ematossilina ferrica e con la fuxina acida; col metodo 1. possono assumere una tinta orange, ma non sono però solubili nei solventi dei grassi ed anche qui ci troviamo di fronte a formazioni costituite di un substratum proteico e di un alone periferico lipoide; anche questo però in casi molto avanzati può scomparire. Da questa fase l'elemento cellulare passa mano mano, quando si trova nelle condizioni opportune, allo stadio adulto; su ciò credo inutile insistere per non cadere in inutili ripetizioni.

* * *

Finalmente in alcune condizioni patologiche possiamo riscontrare nella cellula adiposa un' altra sostanza, la quale come vedremo è in intima relazione col metabolismo lipoide e che forse deve considerarsi come un prodotto di degenerazione; tale sostanza è precisamente uno speciale pigmento.

Albiamo visto innanzi a proposito della letteratura di questo argomento come alcuni autori affermano che la cellula adiposa in una fase avanzata di atrofia, in cui il grasso è totalmente o quasi scomparso, possa contenere un pigmento, che viene considerato come un lipocromo; Neumann infatti ha dato di ciò una prova istochimica nelle cellule adipose atrofiche della rana.

È noto che alcuni tessuti adiposi appaiono di colorito giallo più o meno intenso ed è generalmente ammesso che tale colorito sia dovuto ad un pigmento grasso, appartemente alla categoria dei lipocromi, il quale si troverebbe disciolto nel grasso della cellula adiposa e può essere estratto e separato da questo in uno stato più o meno puro con oppurtuni metodi chimici. I caratteri fondamentali di questi speciali pigmenti consisterebbero nella loro solubilità nei solventi dei grassi e nelle loro caratteristiche reazioni, quando vengano trattati con una soluzione jodo-jodurata addizionata o non con H_2SO_4 oppure con HNO_3.

Premesse queste brevi nozioni vediamo se il pigmento che si riscontra in alcune condizioni nelle cellule adipose possa realmente considerarsi come un lipocromo.

In alcuni casi raramente però e particolarmente negli anfibii si possono trovare nelle cellule adipose atrofiche dei granuli i quali dopo trattamento con soluzione jodo-jodurata assumono una tinta verde-bluastra, mentre questa reazione non si osserva se le sezioni hanno subito precedentemente l'azione dei solventi. In generale però ci troviamo di fronte ad una sostanza i cui caratteri sono assolutamente diversi e sui quali credo che sia necessario insistere. Un adatto materiale di studio per tali ricerche ci viene specialmente fornito dal tessuto adiposo che avvolge gli organi interni dell' uomo in casi di dimagramento, dovuto a malattie esaurienti:

1. Osserviamo anzitutto un preparato a fresco: In questo caso nelle cellule adipose si notano oltre a gocciole più o meno grandi di grasso e riconoscibili dai loro caratteri fisici, delle formazioni più o meno grandi come le precedenti, le quali spiccano per il loro colorito giallo-brunastro. Tanto quelli che questi sono insolubili in acqua, in acidi ed alcali diluiti; le formazioni pigmentate poi al contrario delle gocciole grasse non scompaiono dopo l'uso dei solventi dei grassi.

2. Osserviamo ora una sezione di un pezzo fissato in formolo al 10% od in alcool a 70° a 80° ed incluso in un mezzo acquoso o congelato: colorando una di tali sezioni con Sudan III vediamo che in gran parte anche le formazioni pigmentate assumono un colorito arancio o rosso-arancio, e lo stesso si ottiene anche se le sezioni prima della colorazione sono trattate

a lungo con alcool assoluto o con etere freddo. Al contrario se prima della colorazione le sezioni vengono sottoposte all' azione del cloroformio, della trementina, del solfuro di carbonio o dell' etere di petrolio, mentre persistono le formazioni pigmentate esse non assumono alcuna tinta e rimangono così col colorito giallo-bruno originario.

3. In preparati allestiti col mio 1. metodo vediamo che gran parte delle formazioni pigmentate assumono una tinta rosso-arancio od orange, mentre alcune non assumono affatto o solo debolmente la tinta del Sudan.

Dato questo modo di comportarsi delle granulazioni pigmentate non possiamo pensare che si tratti di un lipocromo; d'altra parte possiamo riscontrare tale sostanza in tessuti adiposi i quali si presentano normalmente di colorito bianco e dai quali non è possibile estrarre un lipocromo almeno in quantità apprezzabile. Inoltre in alcune cellule adipose la quantità è così abbondante che non è possibile supporre che esso sia dovuto alla scarsa quantità di lipocromo, sciolto nel grasso di queste cellule. Sicchè a prima vista non rimarrebbe altro a pensare che le formazioni in parola siano costituite per lo meno di una sostanza che si comporta come un lipoide e di un' altra sostanza che ha perduto i caratteri di questo. Sulla possibile natura di questa sostanza non insisto per adesso, rimettendo tale questione ad un capitolo finale, tanto più che avremo agio di notare delle formazioni simili in altri organi e tessuti.

B. Cellule lecitiniche (Ciaccio)[1]).

Abbiamo visto innanzi come in alcune condizioni la cellula adiposa possa assumere dei caratteri speciali per i quali si differenzia notevolmente da una stessa cellula in fase di riposo. Infatti, oltre a modificazioni strutturali e morfologiche, riscontriamo importanti trasformazioni chimiche, per effetto delle quali ci troviamo di fronte ad elementi cellulari contenenti in prevalenza nel loro protoplasma dei lipoidi. Tale cellule furono da me intese con la denominazione di cellule lecitiniche, che forse sarebbe più opportuno denominare cellule lipoidi. In questa categoria però vanno incluse oltre a tali cellule, che rappresentano uno stadio funzionale della cellula adiposa, altri elementi cellulari che io ho creduto di riunire nello stesso gruppo, almeno provvisoriamente, in base ai loro caratteri istochimici.

Nello stesso tessuto adiposo in alcune condizioni sia locali che gene-

[1]) C. Ciaccio, Folia haematologica, 1909. — Centralbl. für allg. Path. und path.-Anat., 1909. — Anatomischer Anzeiger, 1909. — Pathologica, 1910.

rali, sia fisiologiche che patologiche si possono mettere in evidenza tra le cellule grassose degli elementi coi seguenti caratteri:

1. Sono di forma varia: rotonda, ovale, fusiforme; per lo più sono elementi allungati provvisti di prolungamenti terminanti a guisa di virgola, in modo da rassomigliare in alcuni casi ai plasmatociti.

2. Egualmente variabili sono le loro dimensioni: in generale la loro lunghezza oscilla tra 20 a 40 μ.

3. Sono sprovviste di membrana.

4. Il nucleo è ora centrale, ora eccentrico, con cromatina disposta a granuli e con nucleolo per lo più evidente.

5. Il protoplasma presenta numerose vescicole e granuli lipoidi e, tra questi, granuli tingibili con ematossilina ferrica o fuxina acida.

Con molta probabilità gli elementi in discorso originano dalle cellule connettive situate intorno ai vasi capillari del tessuto adiposo, ma non si può escludere la loro origine da altri elementi connettivali interstiziali.

Oltre che nel tessuto adiposo, come già altrove ho rilevato, si possono riscontrare elementi simili nei tessuti emopoietici e in ogni tessuto connettivo infiammato.

Per quanto riguarda i tessuti emopoietici le cellule lecitiniche si possono riscontrare anche, sebbene raramente, in condizioni normali; di regola però esse si riscontrano quando in una maniera qualsiasi sia eccitata la funzionalità di questi tessuti.

Per quanto riguarda il connettivo infiammato esse sono numerose a preferenza nelle infiammazioni croniche ed in special modo nello stroma di alcuni tumori (adenomi, carcinomi, endoteliomi).

Qualunque sia la topografia e l'origine di tali cellule è assolutamente da escludersi che si possa trattare di elementi degenerati od in fase di fagocitismo, come d'altra parte godono di una certa individualità *funzionale*, per cui facilmente possono differenziarsi da altri elementi, che eventualmente possono contenere dei lipoidi.

Che non si tratti di elementi degenerati viene dimostrato in parte dai loro caratteri citologici e particolarmente del nucleo; inoltre in alcuni casi mi è stato possibile sorprendere in essi delle immagini cariocinetiche o di amitosi; infine, come ho accennato sopra, si possono riscontrare in tessuti normali.

Similmente nei tessuti infiammati e in quelli linfoidi si trovano elementi cellulari — *macrofagi* — i quali possono contenere nel loro protoplasma notevoli quantità di lipoidi, originati da processi enzimatici sulle emazie ed i leucociti inglobati. In tali elementi però è facile riscontrare

accanto ai lipoidi altre sostanze: residui cromatinici, emoglobina ecc. o addirittura leucociti ed emazie.

Finalmente nei tessuti infiammati parecchi elementi (Plasmazellen-mononucleati — cellule endoteliali — cellule giganti ecc.) possono contenere lipoidi: tali elementi però sono facilmente differenziabili dalle cellule lecitiniche sia per i loro caratteri morfologici e strutturali sia perchè i lipoidi in quelli oltre ad essere incostanti sono molto meno abbondanti che in queste.

In conclusione dunque le cellule lecitiniche possono rappresentare o una fase evolutiva della cellula adiposa oppure possono originare da altri elementi mesenchimali.

* * *

Da quanto ho esposto risulta adunque che tra gli elementi mesenchimali deputati al metabolismo delle sostanze grasse dobbiamo distinguere due specie di elementi: la cellula adiposa e la cellula lecitinica.

Vediamo ora di potere stabilire possibilmente la funzione di questi elementi:

1. Una delle funzioni della cellule adiposa che più risalta e che perciò si è rilevata facilmente è quella di immagazzinare dei grassi neutri; la chimica fisiologica infatti ci mostra che il grasso del tessuto adiposo risulta di un miscuglio di trigliceridi e precisamente di oleina, palmitina e stearina oltre a picole quantità di lecitina, colesterina, lipocromo. Il rapporto quantitativo tra i diversi trigliceridi è vario a seconda della località del tessuto adiposo, a seconda della specie ed a seconda dell' alimentazione: così il grasso sottocutaneo e quello del midollo osseo sarebbe più ricco in oleina del grasso che avvolge gli organi interni; gli animali ingrassati rapidamente sono forniti di un grasso più ricco d'oleina.

La questione poi incomincia a diventare oscura e controversa, quando si vuole stabilire il modo come questo grasso si immagazzina ed il modo col quale esce dalla cellula adiposa per essere somministrato all' organismo a misura che i bisogni di questo lo richieggano. Troppo lungi mi porterebbe l'esposizione delle diverse teorie emesse al riguardo; credo però che una soluzione di tali problemi non può aversi solo con ricerche chimiche, ma invece con quelle istochimiche, le quali disgraziatamente ancora si trovano in uno stato rudimentale.

Intanto cercherò di venire a qualche possibile conclusione riguardo al meccanismo funzionale della cellula adiposa in base ai risultati delle mie ricerche.

Prima di tutto i dati citologici mi portano a confermare sempre più che la cellula adiposa sia un elemento a secrezione interna restauratrice, che esercita tale funzione a profitto dell' organismo specialmente in date condizioni. Una grande importanza secondo me bisogna attribuire alla membrana cellulare o cuticula lipoide: abbiamo visto infatti che questa oltre a presentare una costituzione caratteristica presenta anche delle differenze a seconda che si esamina in periodo di riposo o di attività. Siamo quinti portati a supporre che una siffatta costituzione e i cambiamenti a cui essa va incontro siano in intimo rapporto con la sua permeabilità, favorendo od ostacolando l'entrata o l'uscita di date sostanze.

Oltre alla membrana, di un' importanza non trascurabile debbono godere alcune granulazioni, che si trovano tanto nello spessore della membrana quanto nel protoplasma perinucleare: Se da un lato si pensi che tali granuli sono tanto più abbondanti quanto maggiore è lo stato di funzionalità della cellula adiposa e d'altra parte che questa debba elaborare degli enzimi lipasici, non sarebbe inverosimile ammettere che i granuli suddetti avessero lo stesso destino biologico dei granuli di zimogeno di alcune cellule glandolari. Da questo punto di vista i granuli in parola avrebbero un ufficio importante nella scissione e nella sintesi delle sostanze grasse.

Oltre alla membrana periferica in un materiale adatto e convenientemente allestito si può notare un' altra membrana tra il grasso situato al centro di una cellula adiposa in attività e il protoplasma: questa membrana, come abbiamo visto è costituita da un addensamento del protoplasma e può presentare un collaretto costituito di granuli o di strie colorabili dall' ematossilina ferrica. L'importanza di queste strutture dev' essere notevole per il metabolismo della cellula adiposa e forse la membrana ora accennata non dev' essere estranea alla trasformazione delle sostanze grasse: infatti, come abbiamo visto, la natura del grasso che si riscontra nella grossa goccia adiposa è differente da quelle che sotto forma di granuli o di vescicole si riscontra nel protoplasma.

Con quale meccanismo fisico-chimico si verificherebbero tali trasformazioni?

Noi abbiamo visto che durante il riposo della cellula adiposa, il grasso si trova accumulato in questa sotto forma di una grossa goccia adiposa: sicchè in tal caso dobbiamo evidentemente pensare che la tensione superficiale tra grasso e protoplasma sia notevole.

Durante l'attività della cellula adiposa invece bisogna anzitutto ammettere che la membrana esterna di questa subisca tali modificazioni da permettere l'entrata di sostanze speciali, che prima non penetravano; in-

oltre le immagini citologiche ci mostrano che il grasso va incontro ad una frammentazione successiva; ciò è dovuto naturalmente al fatto che o la membrana modificata nella sua natura lascia passare delle sostanze che abbassano la tensione superficiale tra grasso e protoplasma oppure che queste sostanze siano elaborate sotto l'influenza del protoplasma stesso. Comunque sia noi potremmo spiegarci la formazione di una membrana tra il grasso ed il protoplasma secondo il teorema di Gibbs ed in tal caso le sostanze che abbassano la tensione superficiale si accumulerebbero alla periferia della goccia adiposa.

In ultima analisi tali cambiamenti fisici conducono:

1. Ad una modificazione della permeabilità della cuticula lipoide, per cui nella cellula adiposa penetrebbero delle sostanze che prima non penetravano affatto oppure in quantità trascurabili.

2. A trasformazioni fisiche e chimiche del grasso immagazzinato, il quale mentre da una parte subirebbe delle modificazioni tali da potere uscire dalla cellula, d'altra parte in maggiore o minore quantità a seconda dei casi darebbe origine ad una sostanza lipoide. Con molta verosimiglianza questi fatti si effettuano sotto l'influenza di fermenti lipasici.

* *

Abbiamo visto a proposito dell' esposizione bibliografica che gli autori sotto il nome di atrofie intendono degli stati di maggiore funzionalità della cellula adiposa. Dai fatti esposti e secondo il mio modo di pensare questa denominazione non risponde al significato del fenomeno ed in tale caso non bisogna prendere troppo alla lettera il vocabolo atrofia: io credo che razionalmente noi potremmo sostituire le denominazioni seguenti:

a) Cellule adipose iperfunzionanti, e queste alla loro volta in cellule a prevalente funzione grassosa o lipoide.

b) Cellule adipose a caratteri embrionali e ciò quando l'elemento cellulare dopo essersi liberato del grasso e dei lipoidi elaborati acquista i caratteri di una cellula adiposa embrionale e come questa è capace con eguale meccanismo di immagazzinare di nuovo dei grassi neutri.

c) Cellule adipose in fase regressiva.

Credo che queste denominazioni se non altro abbiano il merito di corrispondere agli stati metabolici in cui si può trovare la cellula adiposa.

* * *

Per quanto concerne l'intima natura delle cellule lecitiniche non si può affermare nulla di concreto. A me pare che esse abbiano molta somiglianza con le cellule interstiziali del testicolo e dell' ovajo; infatti spesso

la somiglianza è così spiccata che non sarebbe possibile distinguere le due specie di elementi cellulari sia riguardo ai caratteri morfologici, sia riguardo ai prodotti metaplasmatici. Ammettendo una tale analogia rimane tuttavia oscuro il destino fisio-patologico delle cellule lecitiniche e solo possiamo formulare due ipotesi possibili e cioè: o che tali cellule rappresentino degli elementi a secrezione interna restauratrice oppure degli elementi a secrezione interna protettiva.

Cap. 2. Organi sessuali animali.

In questo capitolo tratterò:

A) Delle cellule interstiziali del testicolo.

B) Delle cellule interstiziali dell' ovajo.

C) Degli elementi dei tubuli seminiferi.

D) Degli elementi ovarici [cellula novo-cellule follicolari-cellule luteiniche].

E) Della placenta.

La riunione di tali elementi in uno stesso capitolo è fatta puramente per comodità di descrizione, senza alcun preconcetto e senza pregiudicare sui possibili rapporti esistenti tra loro; questi, come ho già detto altrove scaturiranno dal contesto del lavoro.

A. Cellule interstiziali del testicolo.

Le cellule interstiziali del testicolo furono scoperte da Leydig[1]) nel 1850 e trovate poco dopo da Kölliker[2]) nell' uomo. Da questa epoca sino ad oggi, sebbene contiamo numerose ricerche, pure ancora parecchie questioni riguardanti la loro natura ed il loro significato biologico non sono ancora ben chiarite.

Prima di passare ai risultati delle mie ricerche accennerò brevemente alle nostre conoscenze acquisite e riguardanti la natura, i prodotti di elaborazione ed il significato fisio-patologico delle cellule interstiziali. In quanto alla natura di questi elementi gli autori sono divisi principalmente in due campi: in quelli cioè che considerano le cellule interstiziali come elementi epiteliali ed in quelli che le considerano come elementi connettivali: qualcuno poi come ad es. Harvey[3]) crede che siano degli elementi nervosi.

---

[1]) Leydig, V. Traité d' Anat. humaine de Testut. 1905.

[2]) Kölliker, Handbuch d. Gewebelehre d. Menschen.

[3]) Harvey, Centr. f. med. Wiss. Bd. XXX.

Seguaci della teoria epiteliale furono dapprima Hofmeister [1]) e Messing [2]); in seguito Nussbaum [3]) in base a ricerche istituite su animali differenti conchiude che le cellule interstiziali originano dai tubi di Pflüger e che perciò esse potrebbero anche negli animali adulti dare origine a nuovi tubuli seminiferi.

Tale opinione fu adottata da Bohm e Davidoff)[4], Lenhossek [5]), Bardeleben [6]) ed altri; quest' ultimo autore poi crede che le cellule interstiziali migrino negli spazzii e nelle fessure della membrana propria dei tubuli seminiferi, per trasformarsi in cellule di Sertoli.

Seguaci della teoria connettivale furono dapprima Leydig e Kölliker: in seguito poi questa fu adottata da un gran numero di ricercatori e pare che oggi appunto sia la più ammessa. Ludwig e Tomsa [7]) fanno originare le prime vie linfatiche del testicolo tra le cellule interstiziali; v. Ebner [8]) ha insistito specialmente sui rapporti tra le cellule interstiziali ed i vasi sanguigni.

Ammettono anche la natura connettivale v. Ebner. Plato [9]), Friedmann [10]), Waldeyer [11]), Hansemann [12]), Tourneux [13]), Régaud [14]), Sénat [15]), Mazzetti [16]), Felizet e Branca [17]), Ancel e Bouin [18]), ecc. Friedmann nel testicolo della *Paludina vivipara* descrive come cellule interstiziali dei grandi elementi vescicolari con un nucleo rotondeggiante e con protoplasma pieno di granulazioni adipose; elementi aventi la stessa conformazione e struttura si riscontrano secondo Flemming e Kollmann nel connettivo dei molluschi. Felizet e Branca portano a tale questione un

---

1) Hofmeister, Sitzungsber. d. math. nat. Kl. d. k. Akad. d. Wiss. Wien. Bd. LXV.

2) Messing, Diss. Dorpat 1875.

3) Nussbaum, Arch. für mikr. Anat. Bd. XVIII.

4) Bohm und Davidoff, Lehrbuch d. Hist. d. Menschen. Wiesbaden 1895.

5) Lenhossek, Arch. f. Anat. und Phys. 1897.

6) Bardeleben, Ibidem. 1897. — Anat. Anzeiger 1892.

7) Ludwig und Tomsa, Sitzungsber. d. Mat. nat. Kl. d. k. Akad. d. Wiss. Wien. Bd. XLVI.

8) V. Ebner, Aus. d. Inst. f. Phys. und Hist. in Graz. 2. Heft. 1871.

9) Plato, Arch. für mikr. Anat. Bd. XLVIII.

10) Friedmann, Ibidem. Bd. XLI.

11) Waldeyer, Arch. f. mikr. Anat. 1874.

12) Hansemann, Virchows Archiv. Bd. CXLII.

13) Tourneux, Journ. d. l'Anat. et de la Phys. 1879.

14) Régaud et Blicard, C. R. de la Soc. de Biol. 1901.

15) Sénat, Thèse de Lyon. 1900.

16) Mazzetti, Gazette intern. di Med. 1903.

17) Felizet et Branca, Journ. de l'Anat. et de la Phys. 1902.

18) Ancel et Bouin, Arch. de Zool. expér. 1903.

contributo interessante: essi cioè hanno visto che in certi testicoli ectopici la membrana propria perde la sua struttura lamellare per acquistarne una fibrillare; in tal caso le cellule connettivali della parete propria non presentano più la struttura di elementi appiattiti a nucleo bastonciniforme, ma invece il protoplasma diviene abbondante, il nucleo s'ingrossa, s'arricchisce in cromatina e presenta un nucleolo voluminoso. Così costituiti questi elementi, secondo gli autori, somigliano perfettamente alle cellule interstiziali, affermando che »les cellules conjonctives de la paroi ont evolué en cellules interstitielles«. Sénat ammette che le cellule interstiziali originano da piccole cellule mesodermiche, giovani, perivascolari.

Ancel e Bouin in seguito a ricerche istituite sul cavallo distinguono tre specie di cellule interstiziali, che caratterizzano rispettivamente il testicolo fetale, il testicolo impubere ed il testicolo durante la spermatogenesi. Secondo questi autori le cellule in parola originano a spese degli elementi connettivali e dei leucociti emigrati dai vasi.

Finalmente debbo ricordare l'opinione di Waldeyer, il quale crede che le cellule interstiziali appartengono a quel gruppo di elementi da lui denominati »cellule plasmatiche (Plasmazellen); in questo gruppo però l'autore mette degli elementi di natura differente.

Per quanto riguarda i prodotti metaplasmatici di queste cellule già i primi autori, come Leydig e Kölliker, notarono nel protoplasma delle cellule interstiziali grasso e granuli di pigmento; Mihalcovicz crede che il grasso sia la caratteristica principale di queste cellule. Plato ne fa uno studio dettagliato, giungendo a conclusioni che sarebbero importanti se fossero state confermate: questo autore ammette l'esistenza di sottili canalini tra le cellule interstiziali ed il piede degli spermatoblasti; attraverso questi canalini il grasso dai primi passa nei secondi e va a nutrire gli spermatozoi. Per quanto riguarda il pigmento Plato crede che questo possa trasformarsi in grasso. Senza dilungarmi in citazioni bibliografiche dirò che tutti gli autori che si sono occupati di questo argomento sono d'accordo nell' ammettere questi due prodotti nelle cellule interstiziali. Per ciò che concerne poi la natura chimica del grasso e del pigmento solo in un'epoca piuttosto recente si contano alcune ricerche: Lewinsohn[1]) con un metodo simile a quello di Pal descrive nelle cellule interstiziali delle gocciole grassose colorate in bleu. Régaud[2]) applicando il suo processo all' ematossilina cuprica al testicolo del porco trova che questa mette in evidenza

[1]) loco citato — V. a. proposito della tecnica.

[2]) Ibidem.

»une quantité considérable de gouttelettes colorées en gris ou en noir, dont les plus grosses sont accumulées dans la zone périphérique et forment comme une couronne autour de la masse archoplasmique centrale«. Egli però distingue questo prodotto messo in evidenza coll' ematossilina cuprica dal grasso; infatti aggiunge: »les préparations fixées par la méthode de FLEMMING montrent que les cellules interstitielles ne contiennent que de très fines et très rares granulations graisseuses«.

ANCEL e BOUIN ammettono nelle cellule interstiziali del cavallo dei granuli, costituiti di una sostanza grassa pigmentata (lipocromo) »cellules à granulations xantochromes«.

Oltre al grasso ed al pigmento nel testicolo dell' uomo furono descritte delle formazioni cristalloidi da REINKE e poi da altri autori; sulla loro natura però nulla si sa di speciale. BENDA[1]) ha anche messo in evidenza in tali elementi i mitocondrii.

Finalmente recentemente sono stati descritti dei granuli colorabili coll' ematossilina ferrica (FELIZET e BRANCA; ANCEL e BOUIN) e delle gocciole colorabili colla saffranina (RÉGAUD).

Per quanto riguarda il significato funzionale delle cellule interstiziali gli autori non sono d'accordo: le opinioni principali al riguardo sono due: a) le cellule interstiziali sono strettamente legate alla funzionalità dei tubuli seminiferi; b) le cellule interstiziali costituiscono nel loro insieme una glandola endocrina.

Abbiamo visto come NUSSBAUM ammette che le cellule interstiziali servano alla formazione di nuovi tubuli seminiferi; BARDELEBEN crede che queste cellule si trasformino in cellule di SERTOLI. Parecchi autori poi, specie tra i meno recenti, attribuiscono a tali elementi una funzione trofica e cioè che i materiali da essi elaborati servano alla nutrizione degli spermatozoi (PLATO-FRIEDMANN-MAZZETTI ecc.).

Un' altra serie di autori poi attribuisce alle cellule interstiziali una secrezione interna, di modo che la funzione endocrina attribuita dal BROWN-SÉQUARD all' intiero testicolo apparterrebbe appunto agli elementi interstiziali.

Già HANSEMANN aveva notato che queste cellule sono abbondanti in individui, in cui la funzione spermatogena è compromessa, sicchè egli crede che la presenza di cellule interstiziali non è in relazione con la spermatogenesi.

CUNEO e LECÈNE[2]) parlano nettamente di secrezione interna, ma però i fatti sui quali si basano a me pare che siano tutt' altro che dimo-

---

[1]) BENDA, Ergeb. für Anat. 1902.

[2]) CUNEO et LECÈNE, Revue de Chirurgie. 1900.

strativi: infatti essi affermano che le cellule interstiziali aumentano di numero nel testicolo ectopico e ciò vorrebbero mettere d'accordo col fatto che i dicriptorchidi presentano spesso gli attributi del feminismo.

Un notevole contributo al riguardo è portato da Ancel e Bouin: secondo questi autori le cellule interstiziali oltre alla funzione problematica attribuita da Leydig e da Plato godono di una secrezione interna. I fatti su cui essi si basano sono parecchi e si fondano sul principio fondamentale dell' indipendenza tra la glandola interstiziale e la glandola seminale: Anzitutto gli animali criptorchidi presentano uno sviluppo spesso notevole della glandola interstiziale e quasi scomparsa della seminale; la legatura o la sezione delle vie escretrici dello sperma conducono all' atrofia dei tubi seminiferi, ma non della glandola interstiziale. Sicchè secondo questi autori, mettendo d'accordo questi dati col fatto che gli animali castrati e gli eunuchi si comportano diversamente dai criptorchidi, concludono che la glandula interstiziale serva a mantenere l'istiuto sessuale ed i caratteri sessuali secondarii.

L'indipendenza della glandola interstiziale dalla seminale è stata anche messa in evidenza per mezzo dell' azione dei raggi X (Villemin, Ancel et Bouin[1]) ecc.), i quali mentre conducono all' atrofia di quest' ultima lasciano intatta la prima.

Però d'altro canto Champy[2]) riferisce il caso di un dicriptorchide, nel quale le glandole seminali per l'avanzata criptorchidia si presentavano sclerotiche con scarsi residui di canaliculi seminali e mancanza assoluta di cellule interstiziali; in tal caso il soggetto presentava tutti i caratteri di un castrato »atrofia dei genitali esterni, mancanza di appetito sessuale«.

La patologia sperimentale ed umana hanno portato anch' esse nuovi argomenti a sostegno della secrezione interna delle cellule interstiziali.

Abbiamo già accennato sopra all'azione della legatura o della sezione delle vie escretrici dello sperma, che mentre conducono ad atrofia dei tubuli seminiferi lasciano intatta la glandola interstiziale. Lo stesso fatto si verifica in patologia umana, quando in qualsiasi modo è ostacolata la escrezione dello sperma.

Ricerche importanti sul modo di comportarsi delle cellule interstiziali in alcuni stati patologici dobbiamo ad Hansemann, il quale notò che esse aumentano considerevolmente nella tubercolosi, nella cachessia cancerigna, nella sifilide e specialmente nell' anemia perniciosa progressiva.

Ancel e Bouin hanno notato nelle intossirazioni e nelle infezioni

---

[1]) Villemin, Ancel et Bouin, C. R. de la Soc. de Biol. T. LXI.

[2]) Champy, Ibidem. 1907.

sperimentali acute di grado moderato una notevole ipertrofia delle cellule interstiziali; in base a questi fatti gli autori attribuiscono a queste cellule un ufficio difensivo a favore dell' organismo. Secondo Voinov invece tale ufficio difensivo sarebbe limitato ad una semplice difesa genitale.

* * *

Ricerche personali.

Ho instituito ricerche sopra anfibii del genere *Bufo. Bombinator* e *Rana*, ed in parecchi mammiferi come il topo, la cavia, il coniglio, il cane e l'uomo in parecchi condizioni fisiologiche e patologiche.

Debbo premettere che, sebbene non abbia ricerche sullo sviluppo delle cellule interstiziali, pure per parecchie ragioni son portato ad ammetterne la loro natura connettivale; i fatti su cui mi baso sono i seguenti:

1. Negli anfibii quando il testicolo è in riposo, tra i tubuli seminiferi non si notano altro che elementi fusati, a nucleo atrofico ed ipercromatico, a scarso protoplasma; in altre parole si tratta di elementi che almeno coi nostri mezzi di osservazione è impossibile poter differenziare dalle comuni cellule connettivali. A misura che la glandola sessuale entra in attività si assiste alla trasformazione di tali elementi: il nucleo diventa più grosso, rotondo od ovale e si provvede di nucleolo; il protoplasma si fa sempre più abbondante, subendo nello stesso tempo una notevole differenzazione.

2. Nei processi infiammatorii le cellule interstiziali si comportano come gli elementi mesenchimali in genere e l'analogia si spinge tanto oltre, che in alcuni casi al posto di tali cellule si osservano dei tipici linfociti ed anche delle Plasmazellen.

3. In alcuni vertebrati inferiori al posto di questi elementi si notano vere cellule del tessuto linfoide e mieloide.

Vediamo ora come si comportano nelle cellule interstiziali i lipoidi: Negli anfibii queste cellule esaminate in periodo di riposo si comportano, come sopra ho accennato, come una comune cellula del connetivo ed in tali condizioni non si notano nello scarso protoplasma tracce di sostanze grasse. A misura però che questi elementi entrano in attività, assistiamo alla produzione di grassi comuni e di lipoidi: i primi sono piuttosto scarsi specialmente in una fase avanzata della funzionalità cellulare: i secondi invece sono abbondanti ed occupano gran parte del protoplasma ad eccezione di una sottile zona periferica. Come in altre cellule a metabolismo lipoide precedentemente studiate anche in questo caso i lipoidi, ricercati col mio 1. metodo si presentano sotto la stessa forma e cioè: sotto forma di vescicole della grandezza di 2μ circa in cui la periferia col mio primo

metodo, prende una tinta intensa rosso-aranciato mentre il centro rimane incoloro o prende una tinta rosa od orange; sotto forma di granuli di grandezza diversa; ed infine sotto una forma non risolvibile in granuli e che ha tutta l'apparenza di un lipoide d'imbibizione. Col 2. metodo troviamo grassi tinti in nero ed in rosso bruno; i primi corrispondono ai vacuoli visibili col 1. metodo ed al centro delle vescicole.

I rapporti tra il grasso comune ed i lipoidi variano a seconda della specie animale e a seconda della funzionalità cellulare; in generale quanto più questa è avanzata tanto più abbondano i lipoidi. In intima relazione coi lipoidi notiamo nelle cellule interstiziali due prodotti, che digià abbiamo visto nei paragrafi precedenti e cioè dei granuli aventi affinità per alcuni colori e del pigmento.

Per quanto riguarda i primi già ho accennato nell' esposizione bibliografica che in epoca piuttosto recente alcuni autori fanno menzione di granuli tingibili coll' ematossilina ferrica (Ancel e Bouin); coll' ematossilina cuprica (Régaud), col kristall-violett (Benda); secondo quest' ultimo autore si tratta di mitocondrii. Io sono riuscito a colorare tali granuli in sezioni provenienti da pezzi trattati col mio 1. metodo e colorate sia coll' ematossilina ferrica che con la fuxina acida, secondo la modalità precedentemente esposta. In ambo i casi si osservano formazioni granulari, vescicolari e raramente bacillari: i granuli di grandezza differente da puntiformi ad 1 μ circa in alcuni casi si presentano allineati in serie oppure fittamente stivati; le vescicole della grandezza di 2 μ ed anche meno presentano un orlo periferico colorato ed un centro incoloro; alle volte quest' orlo anzichè omogeneo sembra costituito di finissimi granuli; le forme bacillari sono piuttosto rare, della lunghezza di 2 μ circa e molto sottili. Evidentemente tali formazioni corrispondono precisamente ai mitocondrii di Benda e rispettivamente ai condriosomi ed alla vescicole mitocondriali. Per quanto concerne la loro natura a me pare che tale prodotto sia in intima relazione coi lipoidi e ciò oltre per il fatto che esso comparisce insieme coi lipoidi anche per le immagini che si ottengono trattando le sezioni con Sudan ed ematossilina ferrica. A tale scopo è necessario per ottenere risultati chiari scegliere a preferenza il testicolo di topo o di cavia e fare uso dell' ematossilina ferrica secondo la modalità esposta a proposito della tecnica.

In tali condizioni osserviamo: granuli e vescicole di colorito rosso-aranciato, granuli di colorito rosso- bruno o violaceo e granuli di colorito nero o bleu intenso.

Istituendo dei confronti tra tutti questi procedimenti notiamo granuli capaci di colorarsi col Sudan, colla fuxina acida e con l'ematossilina

ferrica. D'altra parte bisogna notare che tale ricchezza di granuli non si osserva in preparazioni fissate in formolo, in sublimato oppure in liquido di CARNOY o di BOUIN: in questi casi specie con il liquido di BOUIN si riesce soltanto a colorare pochissimi granuli. Il fatto dunque che molte di queste formazioni si mettono in evidenza dopo il trattamento con i miei metodi e con quello di BENDA e derivati (MEVES, VAN DER STRICHT, RUSSO) fa pensare che esse abbiano una grande analogia coi lipoidi, cosa di cui mi occuperò meglio appresso. Finalmente un altro prodotto strettamente legato al metabolismo lipoide è il pigmento, che presenta le stesse proprietà di quello che abbiamo riscontrato nelle cellule adipose.

Qual' è il metabolismo intimo e rispettivamente de la funzione delle cellule interstiziali?

Abbiamo visto innanzi che le opinioni degli autori a tale riguardo sono disparate e che la questione relativa a la funzione di queste cellule è tuttora aperta: io non pretendo di risolverla, ma credo opportuno di contribuirvi in parte, esponendo brevemente il modo di comportarsi delle cellule interstiziali in alcune condizioni.

Anzitutto bisognerebbe stabilire i rapporti funzionali tra questi elementi e la spermatogenesi.

Non si può negare che nella maggior parte dei casi una certa corrispondenza esista e cioè che gli elementi interstiziali si presentano attivamente funzionanti durante la spermatogenesi, però esistono parecchi fatti che parlono in favore di una indipendenza funzionale: Così ho notato aumento della funzionalità delle cellule interstiziali in tutte quelle condizioni sperimentali e patologiche che rispettivamente aumentano la funzionalità degli elementi cortico-surrenali ed anche delle cellule adipose. Infatti se inoculiamo ad un ratto o ad una cavia una dose non mortale di tossina difterica le cellule interstiziali si presentano ipertrofiche a nucleo grosso e con variazioni di cromaticità; i lipoidi spesso sono abbondanti e così anche il pigmento e le formazioni siderofile o fuxinofile. Lo stesso si verifica in intossicazioni diverse, purchè non siano troppo brutali. Nell' uomo posso confermare i risultati di HANSEMANN ed altri: cioè ho trovato che la funzionalità di questi elementi aumenta spesso notevolmente nella tubercolosi, nel cancro ecc.

Risultati importanti e degni di essere menzionati si osservano in casi di trapianto del testicolo[1]): nelle parte centrale del testicolo trapiantato

[1]) Per consiglio del Prof. PARLAVECCHIO il Dr RINALDI ha studiato come argomento di tesi di laurea e sotto la mia direzione il trapianto del testicolo di cane sotto la cute, nell' epiploon o nello scroto di animali della stessa specie.

si nota una necrosi generale; nelle parti periferiche si ha soltanto atrofia o necrosi dei tubuli seminiferi; mentre le cellule interstiziali si presentano spesso abbondantissime e non è raro riscontrare in esse delle immagini di divisione diretta o di cariocinesi. Tali cellule presentano tutti i caratteri di una notevole attività: abbondanza di lipoidi, di pigmento, di granuli fuxinofili e rispettivamente siderofili.

Inoltre spesso risulta abbastanza chiaramente che le cellule connettivali della membrana dei tubuli seminali e quelle dell' albuginea entrano in attività, acquistando caratteri tali per cui non è possibile poterli differenziare dalle cellule interstiziali e rispettivamente dalle cellule lecitiniche o lipoidi (Ciaccio), che si riscontrano nella zona d'infiammazione reattiva dei tessuti circostanti.

B. Cellule interstiziali dell' ovajo.

Le cellule interstiziali dell' ovajo furono, come quelle del testicolo variamente interpetrate e considerate dagli studiosi.

Esse furono scoperte quasi contemporaneamente da Schrön[1]) e da Pflüger[2]) nel 1863; il primo le chiamò Stromazellen e le considerò come elementi residuali del corpo luteo, destinati alla nutrizione delle giovani uova; il secondo invece le considerò come cellule degenerate.

Da questa epoca in poi le cellule interstiziali furono oggetto di numerose ricerche, delle quali accennerò brevemente a quelle riguardanti la natura, i prodotti metaplasmatici e la funzione. In quanto alla natura gli autori si schierano principalmente in due campi: in quelli cioè che credono le cellule interstiziali di natura connettivale ed in quelli che le credono di natura epiteliale. Tra i seguaci della prima teoria cito: His[3]), Waldeyer[4]), Tourneux[5]), Plato[6]), Régaud e Policard[7]), Cohn[8]), Sainmont[9]), Giannelli[10]) ecc.; tra i secondi, i quali fanno originare le cellule interstiziali dall' epitelio germinativo cito: Rouget[11]), Harz[12]),

---

[1]) Schrön, Zeitschr. für wiss. Zool. 1863.
[2]) Pflüger, Über die Eierstöcke der Säugetiere und des Menschen. Leipzig 1836.
[3]) His, Arch. f. mikr. Anat. Bd. I.
[4]) Waldeyer, Ibidem.
[5]) Tourneux, Journ. de l'Anat. et de la Phys. 1879.
[6]) Plato, Arch. für mikr. Anat. Bd. XLVIII.
[7]) Régaud et Policard, C. R. de l'Assoc. des Anatomistes. 1901.
[8]) Cohn, Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXII.
[9]) Sainmont, Arch. de Biologie. T. XXII.
[10]) Gianelli, Monitore Zoologico Italiano. 1905.
[11]) Rouget, C. R. Ac. des Sciences. T. LXXXVII.
[12]) Harz, Arch. für mikr. Anat. Bd. XXII.

Janosik[1]), Rabl[2]), Chiarugi[3]) e suoi scolari e recentemente Ganfini[4]).

Un fatto importante a stabilire sarebbe quello riguardante la presenza delle cellule interstiziali nelle varie classi di vertebrati: a tal proposito dobbiamo delle ricerche sistematiche a Ganfini; questo autore ha ottenuto risultati negativi solo per i pesci e per gli anfibii anuri, mentre ne ha rilevato la presenza negli urodeli, rettili ed uccelli. Per quanto riguarda gli anfibii anuri ho già ricordato come Ancel e Bouin hanno creduto di identificare come glandola interstiziale il corpo grasso di questi animali, il quale rappresenterebbe una parte differenziata dell' epitelio germinativo. Nei mammiferi poi le cellule interstiziali sono variamente distribuite e sviluppate a seconda delle specie: secondo qualche autore, come ad es. Fränkel[5]) tali elementi mancherebbero nella donna ed in alcuni grossi mammiferi; però ricerche accurate di Wallart[6]), Cesa-Bianchi[7]), Ganfini ed altri fanno notare la presenza di cellule interstiziali in tutti i mammiferi. Non insisto ulteriormente su tale questione e mi baste di avere accennato ai punti più salienti.

Per quanto riguarda i prodotti elaborati dalle cellule interstiziali dell' ovajo notiamo molta analogia con quelle del testicolo. Un prodotto importante e rilevato sin dai lavori di Schrön e di Pflüger è il grasso, però riguardo alle proprietà ed alla natura di questa sostanza solo in epoca recente si sono istituite delle ricerche specialmente per parte di Loisel[8]), Régaud, Cesa-Bianchi, Parhon, Dumitresco e Nissipesco[9]), Ciulla[10]). Loisel, applicando i suoi procedimenti, già esposti nel capitolo della tecnica, crede che il grasso delle cellule interstiziali sia di natura lecitinica.

Cesa-Bianchi, studia il modo di comportarsi delle granulazioni grassose verso l'acido osmico ed altri caratteri, concludendo che: »per alcuni caratteri (colorazione secondaria in presenza di acido osmico, lenta solubilità nell' alcool a temperatura ambiente) mi sembra che esse corrispondano alle granulazioni grassose della cellula luteinica, che ho dimostrato

---

1) Janosik, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. Wien. Bd. XCI.
2) Rabl, Anat. Hefte. 1898.
3) Chiarugi, Atti della Ra. Accad. dei Fisiocritici. 1888.
4) Ganfini, Archivio di Anatomia e di Embriologia. 1908.
5) Fränkel, Arch. für Gynäk. Bd. LXXV.
6) Wallart, Arch. f. Gynäk. Bd. LXXXI.
7) Cesa-Bianchi, Archivio di Fisiologia. 1907.
8) Loisel, Journ. de l'Anat. et de la Phys. 1904—1905.
9) Parhon, Dumitresco et Nissipesco, Réunion biol. de Bukarest. 1909.
10) Ciulla, Gli organi a secr. interna in gravidanza. Palermo 1909.

essere essenzialmente sostituite di lecitina; ripeto però che non ho finora dati sufficienti per poterlo affermare con certezza«.

Parhon, Dumitresco e Nissipesco servendosi del metodo di Herxheimer, del liquido di Flemming e dei metodi di Loisel, notano delle differenze tra il grasso sottocutaneo e quello delle cellule interstiziali; inoltre secondo questi autori dalla polvere di ovajo del commercio si può estrarre una sostanza grassa, la quale precipita con l'acetone.

Ciulla recentissimamente ha fatto uno studio molto accurato, studiando sistematicamente il modo di comportarsi del grasso verso i varii reattivi. Impiegando l' acido osmico si rilevano due specie di grasso e cioè una che si colora primieramente in nero e piuttosto scarsa, l'altra che si colora in bruno e abbondante; la prima dopo osmizzazione è insolubile o quasi in xilolo, mentre la seconda si scioglie in questo reattivo e resiste solo al trattamento con etere di petrolio. Ha applicato inoltre il mio metodo 1. per i lipoidi e così si esprime: »ho potuto dare una prova più probabile (della natura lecitinica) servendomi del processo Ciaccio, che risulta positivo per parecchi granuli delle cellule interstiziali«.

Per quanto riguarda la presenza di altre immagini metaplasmatiche oltre al grasso non esistono dati sicuri nella letteratura: solo recentemente Ciulla servendosi del mio procedimento alla fuxina acida-verde jodo asserisce di avere riscontrato tra le granulazioni grassose e lipoidi dei granuli di aspetto mitocondriale.

Riguardo al significato funzionale, scorrendo la letteratura, assistiamo alle stesse interpetrazioni che abbiamo già visto a proposito delle cellule interstiziali del testicolo: Schrön crede che le »Stromazellen« servano alla nutrizione delle giovani uova; una simile opinione esprime Pflüger; Plato ripete la stessa opinione espressa per le cellule interstiziali del testicolo; Paladino[1]) crede che esse siano degli elementi in degenerazione grassa; Montuoro[2]) nega la funzione nutritiva delle cellule interstiziali a favore delle uova; Waldeyer ne fa una varietà di »Plasmazellen« nel senso da lui attribuito a questa parola. Finalmente una grande maggioranza di autori specie recenti ammette che la glandola interstiziale dell' ovajo goda degli attributi di una glandola a secrezione interna. Riguardo al destino di tale secrezione da alcuni (Ancel e Bouin) si ammette che alle cellule interstiziali dell' ovajo come a quelle del testicolo sia dovuta la conservazione dei caratteri sessuali. Loisel propende ad ammettere una funzione epuratrice rispetto all' organismo e Voinov una funzione di

---

[1]) Paladino, Giornale internazionale delle Scienze Mediche. 1881.

[2]) Montuoro, Arch. ital. di Anat. e di Embr. Vol. II.

difesa genitale. Per altri autori infine tali cellule eserciterebbero sull' organismo in generale una funzione trofica, regolando il ricambio di alcune sostanze.

Riguardo alle variazioni che subiscono le cellule interstiziali in alcune condizioni fisiologiche e patologiche le ricerche sono piuttosto scarse:

Recentemente Cesa-Bianchi ha studiato il comportamento di queste cellule nel letargo in confronto col periodo di veglia in alcuni chirotteri: dalle sue ricerche risulta che: »Negli animali ibernanti mentre la glandola interstiziale dell' ovajo è scarsamente rappresentata durante il sonno invernale, assume invece un' importanza notevole già all' epoca del risveglio e più ancora durante tutto il periodo estivo, per tornare poi a presentare proporzioni ridotte, a scomparire quasi coll' avvicinarsi della cattiva stagione.«

Durante la gravidanza Ciulla ha notato modificazioni, ma non notevoli, delle cellule interstiziali e consistenti in un aumento di volume delle cellule e rispettivamento di un aumento dei lipoidi.

Per riguardo al comportamento nelle infezioni ed intossicazioni le ricerche di Voinov[1]) tenderebbero ad ammettere un ufficio, come sopra ho detto, di difesa genitale; recentemente Montuoro[2]) nell' infezione melitense ha notato fatti degenerativi delle cellule interstiziali.

Ricerche personali.

Anzitutto si dovrebbe stabilire la natura delle cellule interstiziali dell' ovajo. A dire il vero io non ho dati sufficienti per pronunciarmi recisamente; d'altronde credo che dal punto di vista funzionale non sia indispensabile risolvere tale questione, perchè oramai pare che l'origine mesenchimale di dati elementi non escluda affatto la natura glandolare di essi.

Ad ogni modo io propendo per la natura mesenchimale delle cellule interstiziali dell' ovajo, come del resto ho sostenuto anche per quelle del testicolo. Infatti in alcuni mammiferi come nella cagna e nella donna si possono riscontrare cellule interstiziali sparse in mezzo al connettivo di sostegno e che in nulla differiscono da una cellula lecitinica (Ciaccio) del connettivo infiammato o del tessuto adiposo. Ripeto però non ci tengo affatto ad insistere su tale questione, perchè alcuni caratteri che fino a poco tempo fa erano creduti essenziali per differenziare gli elementi mesenchimali dagli epiteliali, hanno perduto molto della loro importanza: i recenti metodi introdotti per la ricerca del connettivo, hanno dimostrato

---

[1]) Voinov, Arch. de Zool. expér. et général. T. III.

[2]) Montuoro, Congresso ital. di Patologia. Palermo 1908.

fibrille tra cellula e cellula in tessuti sicuramente epiteliali. In tal guisa non resta che il criterio ontogenetico, sebbene alcuni in epoca piuttosto recente (Retterer ed altri) ammettano la possibile trasformazione degli elementi epiteliali in connettivali e financo in linfociti.

Lasciando dunque sospesa tale questione, passiamo senz' altro allo studio dei lipoidi delle cellule interstiziali. Le mie ricerche sono state eseguite su anfibii (*Bufo-Rana-Bombinator*) e su mammiferi diversi; cane, gatto, cavia, topo, coniglio. In questi ultimi animali come è noto le cellule interstiziali sono variamente conformate e distribuite, ma però si nota in tutte una stretta parentela per ciò che riguarda il loro metabolismo istochimico. Negli anfibii da me studiati non pare che esista un tessuto interstiziale vero e proprio e solo accidentalmente si può riscontrare nel connettivo di sostegno qualche elemento, avente molta analogia colle cellule interstiziali dei mammiferi. Non condivido affatto l'opinione di Ancel e Bouin riguardante la analogia tra il corpo grasso degli anfibii e la glandola interstiziale dei mammiferi, almeno nel senso e colla funzione ammessa da questi autori. In altre parole, io credo, come dirò meglio appresso che le cellule interstiziali, sia del testicolo che dell'ovajo, abbiano una stretta analogia cogli elementi a funzione lipoide preponderante, diffusi in tutto l'organismo (cellule adipose — cellule lecitiniche), ma non credo che le cellule del corpo grasso degli anfibii godano di speciali caratteri per cui si differenziano dagli elementi adiposi in genere. Infatti a proposito del tessuto adiposo mi sono occupato del corpo grasso degli anfibii e son venuto alla conclusione che le cellule di questo in nulla si differenziano per i caratteri morfologici, citologici ed istochimici dalle cellule adipose che si riscontrano in altri siti. Questi dunque sono i fatti, che in verità credo poco si accordino con quanto asseriscono Ancel e Bouin; tutto al più credo che sia razionale ammettere che dati i rapporti di contiguità ha il corpo grasso e l'ovajo negli anfibii, questo per il suo metabolismo usufruisca, a preferenza di altri tessuti, del materiale elaborato da quello. E ciò neppure deve interpetrarsi in senso molto stretto ed esclusivo: infatti io ho notato che durante l'epoca della maturità sessuale il metabolismo istochimico dei lipoidi non è solo accentuato nelle cellule del corpo grasso, ma anche in altri elementi adiposi come ad es. quelli situati intorno al cuore. Voglio sperare che gli autori non vogliano considerare come glandola interstiziale anche questi ultimi; in tal caso, se vogliamo restare nel campo delle possibilità, tutti possiamo avere ragione.

Se esaminiamo le cellule interstiziali di un mammifero in condizioni normali e fuori del periodo di gestazione osserviamo quanto segue riguardo ai rapporti tra grassi e lipoidi:

Trattando le sezioni col metodo 1. la maggior parte delle cellule contiene: a) parecchie gocciole di circa 2 μ di diametro, le quali alla periferia presentano un sottile orlo di colorito rosso-aranciato mentre il centro è incoloro o leggermente rosa; b) delle gocciole uniformemente tinte in rosso aranciato; c) delle gocciole che rappresentano une stadio di transizione tra a) e b); d) finalmente tra le gocciole si notano finissimi granuli, i quali prendono col Sudan una tinta molto intensa.

Le sezioni trattate col metodo 2. e 3. mostrano prima della colorazione col Sudan delle gocciole nere, altre brune e granuli egualmente bruni; dopo colorazione con Sudan-emateina le prime rimangono nere mentre le secondo e gli ultimi acquistano una tinta rosso-bruna.

Le sezioni trattate col metodo 1. e colorate con Sudan-Ematossilina ferrica (metodo IA) lasciano notare tra le gocciole granuli tinti in nero; rispettivamente il metodo IB) colora tra le gocciole giallette o rosa dei granuli intensamente tinti in rosso-rubino. Questi granuli però sono piuttosto scarsi relativamente a quelli delle cellule interstiziali del testicolo.

Questi sono i caratteri delle cellule interstiziali in genere: per ciò che concerne le Thecazellen, che dagli autori vengono considerate della stessa natura, pare che esse nella struttura generale somigliano alle cellule interstiziali, e l'unica differenza che io ho potuto notare consiste nella maggiore abbondanza di lipoidi rispetto ai grassi ordinarii.

Nelle gravidanza, nelle infezioni ed intossicazioni moderate, le cellule interstiziali dell' ovajo si comportano come quelle del testicolo: esse anzitutto aumentano di numero e di volume; l'aumento numerico si può agevolmente rilevare in quegli animali in cui la cosidetta glandola interstiziale è rappresentata da elementi sparsi, come p. es. nella cagna: se a questi animali iniettiamo ad es. una piccola dose di tossina differica o tetanica vediamo aumentare le cellule interstiziali quasi del doppio; come si verifica questo aumento? Io veramente non ho potuto osservare immagini di cariocinesi, ma solo qualche amitosi: credo però che l' aumento numerico di tali elementi si verifica per un altro meccanismo: Tra le cellule interstiziali si notano cellule che in nulla differiscono da una comune cellula connettivale: sono appunto queste ultime che nelle condizioni su accennate aumentano di volume, il nucleo da atrofico diventa grosso, rotondo, si provede di nucleolo: in pari tempo il protoplasma elabora lipoidi, ed in tal modo si assiste alla produzione di elementi che almeno apparentamente in nulla differiscono da una cellula interstiziale.

Comunque sia questi elementi aumentati di numero e di volume con-

tengono in pari tempo nel loro protoplasma in massima parte gocciole lipoidi, le quali coi miei metodi sono colorate intensamente ed uniformemente dal Sudan.

C. Degli elementi dei tubuli seminiferi.

In questo paragrafo non posso certamente entrare in dettagli, riguardanti la genesi ed il modo di comportarsi degli elementi seminali: mi occuperò dunque, come al solito, dei lipoidi e dell' importanza che questi possono avere nella spermatogenesi.

Già sin da parecchio tempo gli autori fanno menzione del grasso contenuto negli elementi dei tubuli seminiferi; così esso fu già segnalato da Ebner e da Neumann. In seguito Brown[1]) ha sostenuto che il grasso fosse unito a sostanze albuminoidi e fosse colorabile coll' ematossilina.

Plato[2]) ha molto insistito sul grasso dei tubuli seminiferi e sul suo ufficio: in alcuni animali il grasso elaborato dalle cellule interstiziali attraverso canalini o prolungamenti speciali passerebbe nelle cellule di Sertoli e nelle spermatidi e quindi negli spermatozoi; in altri animali invece come il topo il grasso passerebbe dalle spermatogonie alle spermatidi. In seguito questo autore ha creduto di ammettere la permeabilità della membrana propria per il grasso. A seconda delle sede primitiva del grasso egli poi distingue le glandole genitali in quelle a nutrizione epiteliale ed in quelle a nutrizione interstiziale a seconda che il grasso si trovi localizzato sin dall' inizio negli epitelii seminali o nelle cellule interstiziali.

Friedmann[3]) pensa che il grasso nella *Rana viridis* dapprima venga elaborato dalle cellule seminali e che in seguito, quando queste si moltiplicano, il grasso elaborato dalle cellule interstiziali passerebbe nei tubuli. Mazzetti[4]) conferma questi dati, dicendo che la prima origine del grasso sia endotubulare e che quando questo viene consumato, allora entra in azione il grasso interstiziale.

Beissner[5]) pensa che il grasso non sia necessario per la nutrizione degli elementi seminali, perchè esso può spesso mancare nel gatto, anche quando nei tubuli seminiferi si trovano spermatozoi maturi. Benda[6]) disegna nel topo delle gocciole nel protoplasma delle cellule di Sertoli e che col suo metodo prendono una tinta grigio brunastra. Régaud[7]) in

---

[1]) Brown, Quat. Journ. of micr. Sc. T. XXV.

[2]) Plato, Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVIII.

[3]) Friedmann, Loco citato.

[4]) Mazetti, Loco citato.

[5]) Beissner, Arch. f. mikr. Anat. Bd. LI.

[6]) Benda, Loco citato.

[7]) Régaud, C. R. Soc. de Biol. 1900. — Arch. d'Anat. micr. 1901.

parecchi lavori ha molto insistito sui prodotti di elaborazione dell' epitelio seminale. Egli anzitutto nota nell' epitelio seminale delle bolle grassose (boules graisseuses), abbondanti nel ratto in un certo stadio della spermatogenesi; inoltre trova dei vacuoli o vescicole, di cui solo la periferia è colorabile coll' ematossilina cuprica: 1) nel protoplasma del sincizio fundamentale (cellule di SERTOLI) sia in vicinanza della membrana basale, sia nei prolungamenti protoplasmatici situati tra le cellule seminali; 2) nel protoplasma degli spermii (spermies), durante la loro metamorfosi; non se ne trovano mai negli spermatociti e nelle spermatogonie.

Si trovano anche tali formazioni oltre che nel ratto anche nel cane, nel gatto, nel porco ecc.; non sono dimostrabili nella cavia.

Avendo questo autore, come abbiamo visto innanzi, trovato lo stesso prodotto anche nelle cellule interstiziali, egli crede che in parte questo passa da tali cellule nei tubuli seminiferi, dove è ripreso dalle cellule di SERTOLI ed in parte passa nel circolo generale (secrezione interna). In quanto ai rapporti tra il grasso dimostrabile con O_sO_4 e tale prodotto di secrezione RÉGAUD pensa che si tratti di due prodotti differenti; crede però che in alcuni casi il centro non colorabile delle sue vescicole di secrezione possa essere costituito da grasso vero e proprio.

J. BROMAN[1]) mette in evidenza un prodotto simile a quello descritto da RÉGAUD nelle cellule di SERTOLI e nelle spermatidi fissando i pezzi in liquido di HERMANN con o senza successiva colorazione delle sezioni con ematossilina ferrica. In tal modo egli descrive e disegna nell' uomo delle masse piuttosto voluminose, le quali si presentano perforate: a tali formazioni dà il nome di vescicole a paniere »Korbbläschen«, che secondo l'autore non sono dimostrabili nelle spermatidi dei selaci e degli anfibii. Mentre BROMAN da una parte crede che i »Korbbläschen« siano simili alle vescicole descritte da RÉGAUD, d'altra parte afferma che essi »haben eine frappante Ähnlichkeit mit den von MEVES neulich beschriebenen Mitochondrienbläschen der kleinen Spermatiden von *Paludina vivipara*«. In seguito aggiunge però: »Ganz sicher sind indessen unsere Korbbläschen mit diesen Mitochondrienbläschen nicht analog ...«

LOISEL[2]) nel suo lavoro sulla spermatogenesi del passero dice che nell' inverno si trovano nel testicolo granuli grassosi, che scompaiono durante la spermatogenesi.

FELIZET e BRANCA[3]) descrivono anche in casi di ectopia testicolare granuli di grasso nelle cellule di SERTOLI, affermando che esso »a la valeur

1) J. BROMAN, Arch. f. mikr. Anat. Bd. LIX.

2) LOISEL, Journ. de l'Anat. et la Phys. 1902.

3) FELIZET et BRANCA, Ibidem. 1902.

d' une surcharge. Elle n'est qu' exceptionellement le signe d'une dégénérescence«. Secondo questi autori in alcuni casi il grasso è abbondantemente rappresentato.

Dopo questa esposizione, che non ha certo la pretesa di essere completa, s'impone una domanda e cioè: qual' è la funzione ed il destino del grasso testicolare?

Senza dilungarmi dirò che la maggior parte degli autori crede che esso serva alla nutrizione degli elementi seminali, qualunque sia la sua origine: in parte esso passerebbe anche nello sperma, dove rappresenterebbe un prodotto di nutrizione per gli spermatozoi. Qualche autore però (Loisel) crede che ciò non sia dimostrato e che non esiste un accordo tra i pretesi prodotti di nutrizione e la funzionalità degli elementi seminali. Siccome gli autori, quasi concordemente, attribuiscono tale funzione nutritiva alle cellule di Sertoli, Loisel sostiene che queste ultime non abbiano nulla che vedere con tale funzione e che invece esse siano degli elementi dotati di secrezione interna. Tale opinione, in verità poco suffragata dai fatti, è vivacemente combattuta da Régaud.

Ricerche personali.

Ho istituito a tal proposito ricerche su parecchie specie di anfibii e di mammiferi: i risultati migliori per chiarezza e semplicità si ottengono nel testicolo del topo (*Mus musculus*). Incomincio anzitutto dalle cellule di Sertoli:

Studiando la conformazione di questi elementi all' inizio della spermatogenesi non è possibile almeno coi nostri mezzi riconoscere un' individualità cellulare e credo che realmente come affermano parecchi autori si tratti di un sincizio o simplasto. Il nucleo è caratteristico per la disposizione della cromatina, la quale è rappresentata da numerosi granuli fittamente stivati e per la presenza di un nucleolo; tali nuclei inoltre, come del resto ha anche notato Régaud, presentano variazioni di cromaticità; le quali però non sono così spiccate come nella corteccia surrenale, in cui, come vedremo, alcuni nuclei hanno un aspetto addirittura picnotico. Nel caso delle cellule di Sertoli invece le variazioni di cromaticità consistono in una maggiore o minore compattezza delle granulazioni cromatiche e rispettivamente in una più o meno intensa affinità di esse per le tinte basiche. In tal modo in un preparato colorato coll' emateina vediamo agevolmente tale differenza per cui alcuni nuclei appaiono chiari, altri scuri e tra questi due termini estremi si notano degli stadii intermedii.

Il protoplasma del simplasto Sertoliano, osservato in preparati, fissati

ad es. nella miscela di CARNOY apparisce vacuolizzato piuttosto notevolmente: tali vacuoli come vedremo altro non sono che l'immagine negativa del grasso disciolto dai reattivi.

Trattando un preparato col mio 1. processo osserviamo:

1) In vicinanza della membrana di sostegno dei tubuli seminiferi in prevalenza delle grosse gocciole quasi rotonde, il cui diametro varia dai 5 ai 10 μ: specie le più grosse presentano un contorno di colorito rosso-arancio ed un centro incoloro o leggermente colorato in rosa od in orange. I rapporti tra la parte periferica ed il centro delle gocciole sono variabili: così in alcune la prima è meno sviluppata del centro, mentre in altre avviene il contrario; inoltre questa parte periferica ora è regolare ora invece apparisce ad es. come una semiluna. Per ciò che riguarda i mutui rapporti tra le gocciole non ho avuto mai dei reperti che si possano rassomigliare alle vescicole conglomerate di RÉGAUD; invece esse sono nettamente individualizzate e distinte tra loro. Accanto a queste gocciole, dotate delle proprietà su menzionate si osservano, quasi a contatto colla membrana di sostegno, dei vacuoli isolati a riuniti in modo che i loro contorni si toccano: questi appaiono col mio metodo o del tutto incolori oppure con un sottile alone leggermente colorato in rosa.

A misura che si allontaniamo dalla membrana basale si osservano ancora delle grosse gocciole, ma più piccole delle precedenti e per lo più omogeneamente ed intensamente colorate in rosso-arancio.

2) Tra le formazioni sopra descritte notiamo granuli piuttosto piccoli, misurando i più grossi meno di un μ e ravvicinati tra loro: in alcuni casi essi si dispongono in maniera caratteristica e cioè allineati dalla periferia verso il centro del tubulo seminifero.

In sezioni trattate col 2. e 3. metodo e senza alcuna colorazione si notano gocciole tinte in nero ed altre tinte in bruno più o meno intenso; i granuli piccoli appaiono sempre bruni: per tale constatazione è necessario osservare i preparati con una buona illuminazione e con adatti movimenti della vite micrometrica. Gli stessi preparati dopo colorazione con Sudan-emateina fanno notare: gocciole nere; altre con un centro nero ed un contorno rosso-bruno; i piccoli granuli prendono in maggioranza questa ultima tinta: alcuni però sembra che rimangano colla loro tinta bruna originaria.

Se osserviamo il simplasto Sertoliano durante la spermatogenesi più o meno avanzata, vediamo che a misura che questa procede, aumentano anzitutto i nuclei ipercromatici e d'altra parte a lato del nucleolo spesso compaiono due corpicciuoli più piccoli di esso (corpuscoli juxta-nucleolari).

Anche per quanto concerne le sostanze grasse notiamo delle modificazioni: I vacuoli incolori visibili col 1. metodo diminuiscono di numero

fino a scomparire; poco numerose sono le gocciole coi caratteri sopra descritti e quelle esistenti sono dal Sudan in maggioranza omogeneamente colorate: riguardo ai granuli essi in un primo tempo sono abbondanti e fittamente stivate, ma a spermatogenesi inoltrata diminuiscono notevolmente: con grande frequenza tali granuli tendono a disporsi in serie lineari. In alcuni casi si notano gruppi di granuli finissimi in intimo rapporto colle gocciole lipoidi in modo da avere l'impressione che queste si trasformino in quelli.

In preparati trattati col 2. e 3. metodo si nota che i granuli colorati in nero vanno successivamente diminuendo.

Da siffatta descrizione risulta adunque: a) che nel simplasto Sertoliano si trovano abbondantemente rappresentati grassi comuni e lipoidi; b) che i rapporti tra queste due sostanze in linea generale sembrano inversi in maniera da farci pensare che i lipoidi si formano a spese dei grassi comuni; c) che i lipoidi hanno la tendenza a passare dallo stato vescicolare allo stato finamente granuloso.

Una speciale menzione meritano i granuli che sebbene dopo l'uso della miscela osmio-bicromica prendano una tinta bruna pure non si lasciano ulteriormente colorare dal Sudan. Bisogna dunque escludere che essi siano costituiti di una sostanza grassa? Non pare, perchè trattando le sezioni per 24 ore con essenza di trementina alla temperatura di 37° essi al pari delle altre formazioni lipoidi scompaiono. Io penso, come già ho detto nel capitolo della tecnica che forse possa trattarsi di colesterina.

Oltre a queste formazioni gli elementi Sertoliani contengono altri prodotti in intimo rapporto col metabolismo dei lipoidi:

Spesso si notano specialmente in uno stadio avanzato della spermatogenesi dei corpi della grandezza di 3—5 μ, i quali col 1. metodo spesso prendono una tinta intermedia tra quella bluastra conferita loro dall' emateina e quella orange o rosa conferita dal Sudan; appaiono così di una tinta violacea con una nuance rosa od orange. È probabile che queste formazioni corrispondano ai corpi residuali che secondo alcuni autori sarebbero ripresi dal protoplasma Sertoliano. Non posso dire se essi corrispondano a »les boules saphranophiles di Régaud«, perchè la safranina è capace di colorare formazioni differenti e nel caso presente colora benissimo questi corpi, come del resto può anche colorare le formazioni lipoidi sopra descritte. Di molto interesse poi è la presenza di altre formazioni sulle quali ha insistito specialmente Benda e dopo di lui anche Loisel: per il primo di questi autori come avanti ho accennato si tratta di condromiti e quindi secondo le sue vedute di formazioni cellulari fondamentali; per Loisel invece si tratterebbe di un vero prodotto di secrezione.

Per quanto riguarda la reale presenza di tali formazioni io credo che bisogna conchiudere per l'affermativa: infatti i duc autori suddetti riproducono nei loro lavori delle figure quasi simili pur servendosi di differenti metodi di ricerca.

Io sono riuscito a metterle molto bene in evidenza servendomi dei miei processi di colorazione di già accennati nel capitolo della tecnica: esse così in sezioni di pezzi trattati col 1. metodo si lasciano colorare dalla fuxina acida e dall' ematossilina ferrica. Per quanto riguarda la loro configurazione pare che in generale abbiano la tendenza di disporsi in serie lineari e parallele, ma non sempre però; in alcuni casi infatti e specialmente in stadii avanzati della spermatogenesi possono non presentare tale disposizione e si presentano invece distribuite irregolarmente. Per quanto riguarda la forma esse possono assumere l'aspetto di granuli rotondi, di bastoncini, di piccole vescicole di qualche μ di diametro; in conclusione possono assumere tutti gli aspetti che sogliono presentare gli apparati mitocondriali in genere (mitocondrii — condriomiti — condrioconti — vescicole mitocondriali). A me sembra poi che tutte queste formazioni abbiano un rapporto più o meno intimo coi lipoidi e credo anche che non tutte le formazioni che si colorano elettivamente col metodo di Benda e simili e con i miei processi di colorazione (all'ematossilina ferrica o alla fuxina acida) debbano considerarsi della stessa natura chimica.

Per quanto concerne la prima questione credo che abbia un certo valore il fatto che tali strutture mitocondriali non sono visibili dopo trattamento con metodi che sciolgono le sostanze grasse: pur non pertanto si possono colorare alcune granulazioni aventi affinità per l' ematossilina ferrica, specialmente dopo fissazione in liquido di Bouin. Ma è certo che le formazioni in parola si rendono evidenti dopo trattamento con liquidi osmici (liquido di Benda-Flemming-Hermann) o con liquidi cromici (Ciaccio). Ciò farebbe pensare alla loro natura lipoide e alla stessa opinione ha mostrato di tendere recentissimamente Régaud[1]), il quale così si esprime: »il sera peut-être possible de ranger les substances mitochondriales dans le groupe des lipoides ou des lipo-prothéides solubles dans l'alcool«. Questo autore basa il suo modo di pensare sui seguenti fatti:

1) Fissando in liquido formol-picrico esse non sono visibili se non quando dopo la fissazione si procede alla cromizzazione dei pezzi.

2) Se tra la fissazione e la cromizzazione s'interpone un lavaggio in alcool esse non sono più visibili.

---

[1]) Régaud, C. R. de la Soc. de Biol. 1908.

D'altra parte io ho potuto notare che la cromizzazione o l'osmizzazione dei pezzi non agiscono come mordenti per le colorazioni successive: infatti le sezioni di pezzi fissati in formolo, Bouin, sublimato ed inclusi in paraffina, anche se cromizzate od osmizzate non lasciano affatto vedere simili formazioni.

Inoltre in alcune condizioni pare che certi granuli possano assumere più o meno intensamente il Sudan e avanti ho ricordato come i piccoli granuli lipoidi, dimostrabili col mio metodo, possano disporsi nel protoplasma Sertoliano in serie lineari a guisa di condriomiti. Questi caratteri uniti insieme giustificano il mio modo di vedere che gli apparati mitocondriali, almeno in parte, siano in intima relazione coi lipoidi. E ciò basta per adesso; in un capitolo speciale mi riservo di trattare questa importante questione di citologia. Finalmente accenno alla possibilità di potere riscontrare nel protoplasma Sertoliano delle granulazioni pigmentarie; sulle proprietà e sul significato delle quali nulla ho da aggiungere a quanto ho esposto riguardo ad analoghe formazioni della cellula adiposa, ed interstiziale del testicolo e dell' ovajo.

* * *

Dopo avere studiato il modo di comportarsi dei lipoidi nelle cellule di Sertoli vediamo brevemente come tali sostanze si comportino negli elementi che per evoluzione successiva daranno origine al gamete maschile:

Le cellule germinative e le spermatogonie presentano un protoplasma che ad eccezzione di una stretta zona periferica col mio 1. metodo assume una tinta rosea od orange leggiera: inoltre facilmente si notano in questa stessa massa delle granulazioni colorabili intensamente in arancio o rosso-arancio, le quali sono distribuite irregolarmente; riguardo alle loro dimensioni alcune sono puntiformi, altre della grandezza di 1—2 μ, altre con dimensioni intermedie; non si osservano mai delle grosse vescicole coi caratteri descritti a proposito delle cellule di Sertoli.

Negli spermatociti le granulazioni lipoidi sono molto rare, ma è possibile riscontrarne sempre di quelle puntiformi. In questi elementi intanto è da notare che l'idiosoma assume dopo colorazione con Sudan-emateina una tinta tale da far pensare che esso goda di una certa affinità per tutte e due queste sostanze coloranti. L'affinità di questo corpicciuolo per il Sudan aumenta successivamente coll' evoluzione degli spermatociti.

Nelle spermatidi l'affinità dell' idiosoma per il Sudan si va sempre accentuando al punto che esso assume una tinta orange manifesta; a misura poi che procede l'evoluzione di questi elementi al posto dell' idiosoma si

nota un accumulo moriforme costituito di piccoli granuli di colorito rosso-aranciato. Questa caratteristica si accentua sempre più a misura che le spermatidi si evolvono per dare origine agli spermatozoi. Negli spermatozoi non ancora maturi troviamo un accumulo di finissimi granuli lipoidi nel segmento intermedio, mentre negli elementi maturi questi non sono più visibili: però tanto il segmento intermedio quanto la coda assumono una tinta rosea diffusa. Tra gli elementi seminali poi troviamo abbondanti granuli lipoidi i quali provengono dagli elementi Sertoliani. Nel centro del tubulo in cui troviamo elementi desquamati e che vanno incontro a metamorfosi regressive troviamo spesso abbondanti granuli e vescicole lipoidi, che, almeno in parte, originano per un processo degenerativo delle cellule in via di necrobiosi (degenerazione lecitinica, Ciaccio).

Per qanto concerne le formazioni mitocondriali di questi elementi, coi miei processi all' ematossilina ferrica e rispettivamente alla fuxina acida esse si rendono particolarmente evidenti e nulla ho da aggiungere, riguardo alla loro disposizione a quanto risulta dalle ricerche di Benda.

* * *

Dopo avere appreso la distribuzione dei lipoidi nei diversi elementi seminali vediamo se è possibile di stabilire il loro metabolismo.

Come abbiamo visto le cellule di Sertoli elaborano quantità notevoli di lipoidi: qual' è il destino di questi? tale questione speciale, come si vede, si connette con quella generale della funzione delle cellule di Sertoli.

A voler giudicare la questione semplicemente dal punto di vista citologico credo che abbiamo a nostra disposizione parecchi dati per ammettere che la cellula di Sertoli abbia i caratteri di un elemento glandolare. Su questo punto infatti si accordano la maggior parte degli autori recenti come Benda, Régaud, J. Bromann, Loisel ecc. L'accordo però cessa quando si deve stabilire quale sia il destino dei prodotti elaborati da questo elemento glandolare. Sicchè mentre per la maggior parte di questi autori tale prodotto sarebbe destinato alla nutrizione degli altri elementi seminali, per Loisel invece esso sarebbe destinato ad entrare in circolo allo scopo di stimolare le cellule del soma e di favorire così lo sviluppo dei caratteri sessuali secondarii. A tal proposito questo autore porta degli argomenti, che mentre da una parte non si concilierebbero, secondo lui, colla teoria nutritiva, d' altra parte porterebbero un valido appoggio al suo modo di vedere; esaminiamo dunque brevemente il valore delle sue argomentazioni:

Egli crede anzitutto che sia necessario domandarsi: perchè le cellule seminali e particolarmente le spermatidi debbano essere degli elementi

incapaci di nutrirsi da sè, e siccome J. Broman aveva spiegato tale incapacità colla lontananza degli elementi seminali dai vasi sanguigini, Loisel obbietta che tale ragione non possa invocarsi per le spermatogonie ed aggiunge: »nous ne voyons pas pourquoi la lymphe des espaces conjonctifs qui enferme les substances nutritives limiterait sa distribution bienfaisante à la seule cellule de Sertoli, négligeant les cellules voisines«. E così critica anche le ragioni invocate da Peter e fondate sulla conformazione della sostanza cromatica del nucleo.

Loisel inoltra nota che uno dei prodotti, che ha richiamato maggiormente l'attenzione dei ricercatori, e cioè il grasso, non sia un prodotto costante, nè la sua quantità è in rapporto collo stadio della spermatogenesi: egli infatti avrebbe osservato che nel passero durante l'inverno questo prodotto è piuttosto abbondante, mentre fa difetto durante la spermatogenesi.

Infine egli trova un rapporto diretto e costante tra quello che egli dice »prodotti di secrezione delle cellule di Sertoli« e la comparsa dei caratteri sessuali secondarii.

Per quanto riguarda il primo argomento invocato da Loisel, io in verità non trovo per nulla strano che la funzione nutritiva si sia localizzata nelle cellule di Sertoli e quindi nulla di più semplice che in questi elementi per differenzazione si sia accentuata una funzione trofica.

In quanto al suo secondo argomento non credo che sia esatto: le sue ricerche, istituite sul passero, dimostrerebbero tutto al più che in questo animale durante l'inverno si trova nelle cellule di Sertoli un grasso osmioriduttore, mentre durante la spermatogenesi questo potrebbe non godere della stessa proprietà. Infatti Régaud anche nel passero in piena spermatogenesi avrebbe riscontrato numerose vescicole e granuli colorabili col metodo di Weigert e che, almeno in parte, bisogna considerare come lipoidi. Quindi l'affermazione di Loisel è dovuta al fatto che egli non si è servito di metodi adatti per la ricerca dei lipoidi.

Io credo fuor di dubbio che i lipoidi nelle cellula di Sertoli siano un prodotto costante, il quale come abbiamo visto subisce delle modificazioni che hanno intimi rapporti colla spermatogenesi. Si potrebbe obbiettare a questo modo di pensare, che le cellule di Sertoli sono ben rappresentate e proviste di grasso anche nei testicoli dei criptorchidi, nei quali come è noto (Félizet e Branca) non si ha quasi mai l'edificazione d'una vera linea seminale. Secondo me l'obbiezione in questo caso è solo apparente: infatti Felizet e Branca hanno dimostrato in base a numerose osservazioni che a lungo andare le cellule di Sertoli nei testicoli dei criptorchidi vanno incontro a metamorfosi regressive dapprima e poi scom-

paiono. D'altra parte, anche se ciò non fosse, potremmo benissimo ammettere che la cellula di SERTOLI, essendosi differenziata come elemento trofico, continua la sua funzione anche quando non si edifica una linea seminale, ed in questo caso, solamente, il prodotto elaborato non essendo utilizzato si accumulerebbe nella cellula che lo elabora.

Ammessa una funzione trofica nelle cellule di SERTOLI, sotto che forma penetrerebbe negli elementi seminali il prodotto lipoide elaborato da esse?

Stando alle ricerche di RÉGAUD e di BROMAN parrebbe che alcuni prodotti delle cellule di SERTOLI passerebbero immutati nelle spermatidi: così secondo BROMAN nell' uomo si troverebbero in tutti e due queste specie di elementi i »Korbbläschen« e secondo RÉGAUD rispettivamente vescicole di secrezione, colorabili col metodo WEIGERT.

Io, pur attribuendo un ufficio prevalentemente nutritivo alle cellule di SERTOLI, non credo però che i lipoidi penetrino in forma figurata nelle spermatidi: per sostenere un fatto simile si dovrebbe ammettere implicitamente che tali elementi siano dotati di funzione fagocitaria, ciò che non è affatto dimostrato. Secondo me, stando alle osservazioni su accennate, riguardo al testicolo del topo, potremmo compendiare il metabolismo lipoide nel modo seguente:

1) La cellula di SERTOLI ha la proprietà di elaborare lipoidi a spese forse di grassi comuni: ciò è dimostrato dal fatto che in vicinanza delle membrana basale troviamo questi ultimi.

2) I lipoidi a misura che vengono elaborati subiscono dei cambiamenti fisici per cui dalla forma di grosse vescicole passano a quelle di granuli sempre più fini e ciò si verifica andando dall' esterno all' interno del tubulo seminifero.

Questi due fatti ci mostrano che nella cellula di SERTOLI l'evoluzione successiva del metabolismo lipoide si verifica dall' esterno all' interno: ciò a me pare un valido argomento per escludere che il lipoide elaborato sia destinato ad entrare in circolazione. Sicchè non resta che ammettere che esso serva al trofismo degli elementi seminali. Riguardo poi al modo come il lipoide elaborato penetri negli elementi seminali non si può affermare nulla di preciso e in questo caso il problema presenta le stesse difficoltà riguardanti la penetrazione delle sostanze grasse in tutte le cellule dell' organismo: i fatti sopra esposti però ci portano verosimilmente ad ammettere che i lipoidi debbano penetrare nelle cellule seminali in forma solubile e dopo di essere penetrati entrano nella costituzione di date formazioni protoplasmatiche, sia impregnando l'endoplasma, sia entrando a far parte di sostanze complesse quali sono forse quelle che costituiscono il corpo accessorio ed i mitocondrii.

Ammessa così una funzione essenzialmente trofica nelle cellule di Sertoli, a questa secondo me se ne connette un' altra di grande importanza:

Le ricerche istituite sui testicoli dei criptorchidi mentre da una parte ci dimostrano come non sia necessaria l'edificazione d'una linea seminale per lo sviluppo dei caratteri sessuali secondarii, d'altra parte ci dimostrano in questi casi la persistenza delle cellule di Sertoli. Si potrebbe da ciò dedurre anche una funzione endocrina di queste cellule? La cosa a me sembra possibile: in questo caso la funzione delle cellule di Sertoli sarebbe molto complessa e paragonabile a quella di altre cellule dell' organismo.

Com' è noto Bayliss e Starling iniettando gli estratti acidi di mucosa duodenale o del digiuno hanno osservato un aumento notevole della secrezione pancreatica; tale sostanza, che essi hanno chiamato secretina, è resistentissima agli acidi, agli alcali, all' ebollizione ecc. ed avrebbe la proprietà, dopo essere pervenuta in circolo, di eccitare direttamente la secrezione pancreatica. Bottazzi[1]) che ha studiato con molta cura le proprietà chimiche e biologiche dei proteidi intestinali viene alla conclusione che dalla parete intestinale di animali ben nutriti si può ottenere un materiale proteide (enteroproteide) molto complesso e labile: il quale iniettato nelle vene di cani e di conigli:

1) ritarda la coagulazione del sangue,

2) provoca abbondante formazione di linfa,

3) abbassa temporaneamente la pressione del sangue, per dilatazione dei vasi viscerali.

4) eccita potentemente la secrezione della saliva, del succo pancreatico, della bile e del succo enterico.

5) eccita la peristalsi intestinale.

»Tutti questi effetti, dice. l'autore, considerati insieme si rivelano come meravigliosamente coordinati e adattati alla complessa funzione nutritiva (digestione, assorbimento, assimilazione).«

Questi fatti, relativi alla funzione dell' apparato digerente, sono stati generalizzati da Starling ed altri autori inglesi a parecchi organi, ammettendo così che nell' organismo esistono delle sostanze le quali agiscono come »chemical messengers«: a tali sostanze Starling ha dato il nome di ormoni (hormones).

Nel caso della glandola seminale, tenendo conto dei fatti su accennati, si potrebbe ammettere che la cellula di Sertoli oltre alla elaborazione di sostanze le quali servano all' edificazione della linea seminale ne pro-

---

[1]) Bottazzi, Arch. di Fisiologia. 1904.

ducano altre, le quali entrando in circolo funzionano da ormoni. Mi allontanerei troppo dai limiti di questo lavoro se dovessi dire dettagliatamente su quali organi ed in che modo agiscono queste sostanze: accennerò quindi alle linee generali. Tali sostanze secondo me dunque eserciterebbero la loro azione sugli elementi del soma in genere allo scopo:

1. Di assicurare il materiale trofico per l'edificazione della linea seminale; ricordo a tal proposito che il testicolo esercita una influenza manifesta sul metabolismo generale dei grassi e dei lipoidi: a tutti infatti è noto l'aumento del grasso di riserva negli animali castrati e la sua diminuizione durante la spermatogenesi. Non è possibile dire in base alle nostre conoscenze attuali, se l'ipertrofia delle surrenali nella castrazione (Ciaccio[1]), Marassini[2]) debba rientrare nello stesso ordine di idee.

2. Di attivare il metabolismo di quei tessuti ed organi che compiono nell' organismo un ufficio difensivo e ciò per garantire l'individuo da cause nocive esterne ed interne ed assicurare così la moltiplicazione della specie.

3. Di favorire lo sviluppo dei caratteri sessuali secondarii, i quali come sappiamo sin dalle geniali osservazioni di Darwin hanno una parte importantissima per la selezione sessuale.

In conclusione quindi l'ufficio della cellula di Sertoli si esplicherebbe in linea generale a favore degli elementi sessuali, da una parte fornendo loro un materiale trofico acconciamente metabolizzato e dall' altra, favorendo il dinamismo intimo di questi stessi elementi, agendo con speciali sostanze sugli elementi del soma.

Questa ipotesi avrebbe il pregio non solo di essere semplice e chiara, ma di accordarsi, credo, coi fatti osservati.

D. Elementi ovarici.

È oramai un fatto indiscutibile che il gamete femminile abbia l'ufficio importante di accumulare nel suo protoplasma in quantità più o meno rilevanti dei materiali di riserva nutritiva, destinati, almeno pare, alla nutrizione dell' embrione. Riguardo alla natura di tali prodotti già la chimica fisiologica ci ha abbastanza illuminato: a noi interessa richiamare brevemente l'attenzione sulle sostanze lipoidi. Dalle analisi di parecchi autori risulta che nel tuorlo delle uova di pollo tra i grassi comuni si notano a preferenza margarina ed oleina e tra i lipoidi lecitina ed altri fosfatidi, colesterina, un lipocromo ed una sostanza speciale la vitellina,

---

1) Ciaccio, Anat. Anzeiger. 1903.

2) Marassini, Lo sperimentale. 1906.

che, secondo quanto risulta dalle ricerche di Hoppe-Seyler, dovrebbe essere annoverata tra le sostanze lipo-proteiche: infatti dalle ricerche di questo autore risulterebbe che questa sostanza consta di un proteide combinato colla lecitina, la quale si troverebbe nella proporzione del 25 %; di modo che bisognerebbe dunque considerare la vitellina dell' uovo come una lecitalbumina (Liebermann) o meglio come un lipo-proteide.

Dal punto di vista isto-chimico è un fatto banale la dimostrazione di sostanze grasse nelle uova in maggiore o minori quantità a seconda delle specie animali; invece mancano o quasi ricerche istochimiche adatte a differenziare le diverse specie di grasso e solo troviamo qualche tentativo al riguardo da parte di Régaud et Policard[1]). Questi autori hanno istituito delle ricerche col solito metodo di Weigert-Régaud sull' ovajo di cagna. Dalle loro ricerche risulta che l'ovulo embrionale »ne contient pas de produit colorable par l'hématoxyline cuprique«; nelle uova adulte circondate da un solo strato di cellule follicolari »on rencontre un très petit nombre de gouttelettes punctiformes, colorées en noir«; nelle uova adulte, il cui follicolo è provvisto d' una cavità follicolare »le protoplasma ovulaire contient un nombre de plus en plus grand de gouttelettes assez régulièrement arrondies, et réparties d' une facon homogène tout autour du noyau. Ces gouttelettes sont toutes semblables de même taille et de même coloration; elles ne confluent pas les unes dans les autres, bien quelles finissent par être excessivement nombreuses. Une zone étroite de protoplasma ovulaire, sous-jacente à la zone pellucide, en reste dépourvue; la zone pellucide n'en contient pas«. Riguardo alla natura di queste formazione gli autori pensano senz'altro che si tratti di uno speciale prodotto di secrezione.

Oltre al grasso ed a questo prodotto di secrezione (?), studiato da Régaud et Policard nell' uovo sono state descritte formazioni differenti, che forse potrebbero avere un certo rapporto coi lipoidi, ma disgraziamente i nostri mezzi di indagine non ci permettono di stabilire ciò con una certa sicurezza. Ad ogni modo voglio ricordare alcuni fatti messi in luce riguardo a quella formazione enigmatica la quale va sotto il nome di corpo vitellino di Balbiani. Questo organite si è riscontrato in un gran numero di uova e pare che esso in genere abbia un evoluzione progressiva, corrispondente allo sviluppo della cellula uovo; tale evoluzione è stato oggetto di speciali ricerche da parte di van Bambecke e di van der Stricht[2]).

---

[1]) Régaud. et Policard, Assoc. des Anatomistes. 1901.

[2]) Vedi Prenant, Traité de Cytologie. 1904.

Van Bambecke ha notato che negli ovociti giovanissimi di *Pholcus falangioides* il corpo vitellino inizia la sua comparsa sotto forma di un granulo colorabile come la cromatina del nucleo e situato accanto a questo. A misura che l'uovo aumenta di volume il corpo vitellino aumenta anch' esso, assumendo una forma semilunare dapprima e poi di un anello perinucleare. In seguito esso si disgrega dando origine a gocciole grassose, le quali secondo v. Bambecke parteciperebbero più o meno indirettamente alla formazione del vitello nutritivo.

Ho voluto ricordare questi fatti, perchè, come si vede, essi sarebbero strettamente legati al metabolismo delle sostanze grasse dell' uovo; ricerche istituite su materiale differente portano però a conclusioni che non s'accordano con quelle di v. Bambecke: in linea generale possiamo distinguere le opinioni principali degli autori nelle seguenti:

1. Il corpo vitellino rappresenta il centro di formazione degli elementi nutritivi dell' uovo.

2. Esso rappresenta un materiale di riserva, utilizzato durante lo sviluppo dell' uovo.

Accenno semplicemente ad altre formazioni che si riscontrano nell' uovo come pseudocromosomi, mitocondri ecc. e che secondo me, come abbiamo visto a proposito di altri organi e tessuti, hanno un certo rapporto coi lipoidi. Da quest' ultimo punto di vista pare che il mio modo di pensare riceva un certo appoggio dalle ricerche di Russo[1]). relativamente all' origine ed al significato degli apparati mitocondriali dell' uovo di coniglia. Questo autore infatti osserva che nelle coniglia digiuna i mitocondrii sono assenti o quasi, mentre essi abbondano dopo l'iniezione nelle cavità peritoneale di lecitina o di acido glicerin-fosforico. In questo ultimo caso si osservano numerose serie filari di granuli (condriomiti?) colorabili sia coll' ematossilina ferrica secondo v. der Stricht sia col metodo di Benda; in seguito queste formazioni darebbero origine a materiali deutolecitici.

Ognuno vede l'importanza rilevante di queste ricerche, qualora esse fossero confermate; però qualcuno (Levi[2]) mette in dubbio che le formazioni in parola siano dei mitocondrii. A dire il vero a me sembra che si voglia troppo legare i fatti ad idee preconcette: dal momento che il Russo afferma che le granulazioni in parola si colorano anche col metodo di Benda e date le nostre cognizioni al riguardo, siamo autorizzati fino a prova in contrario a considerarle come formazioni mitocondriali. In fondo credo che il Levi vorrebbe combattere i risultati di Russo, partendo da

---

[1]) Russo, Bull. Acc. Gioenia di Sc. Nat. Catania 1908.

[2]) Levi, Monitore Zoologico. 1908.

un principio di fede che, cioè, i mitocondrii siano elementi vitali, trasmissibili attraverso le generazioni cellulari: in questo caso le proprietà cromatiche avrebbero un valore, mentre nel caso di Russo non ne avrebbero più (?). Del resto tornerò appresso su tale importante e delicata questione di citologia.

Passiamo ora alle cellule follicolari, che generalmente sono considerate come elementi nutritivi degli ovociti.

Durante il periodo di accrescimento degli ovociti, questi sono circondati da elementi speciali (cellule follicolari), i quali dapprima monostratificati diventano in un' ulteriore sviluppo polistratificati. In alcuni metazoarii inferiori, come ad es. negli idroidi, pare che siano assimilati dall' ovocito in accrescimento per un fenomeno di fagocitosi: lo stesso si verificherebbe nelle ascidie e nei gasteropodi. Questi fatti furono messi in dubbio da alcuni e per altri si tratterebbe di un modo di nutrizione solo eccezionale: in generale si ammette che dei materiali nutritivi passino dalle cellule follicolari alle cellule uovo. Però non bisogna tacere che le ricerche speciali istituite a questo scopo non sono esaurienti; di un certo valore sono le ricerche di Régaud et Policard, i quali col metodo all' ematossilina cuprica hanno messo in evidenza le solite immagini citologiche (granuli e vescicole nere), che secondo questi autori sarebbero l'espressione di uno speciale prodotto di secrezione.

Altri elementi ovarici, che specialmente hanno attirato l'attenzione dei ricercatori sono quelli che costituiscono il corpo luteo. Troppo lungi andrei, uscendo dai limiti imposti da questo lavoro, se volessi analizzare tutti i dati morfologici, istogenetici e citologici che si sono istituiti al riguardo. M'intratterò perciò specialmente sulle sostanze grasse ed altre formazioni citologiche che sembrano essere in relazione più o meno intima con queste: ciò non pertanto credo utile accennare brevemente all istogenesi delle cellule luteiniche, per sapere almeno con che specie di elementi abbiamo che fare.

Le opinioni riguardanti l'origine del corpo luteo sono tre:

1. Secondo alcuni le cellule luteiniche sono delle cellule epiteliali, le quali originano per ipertrofia degli elementi della granulosa, mentre il tessuto di sostegno ed i vasi si formerebbero a spese degli elementi della teca interna ed in parte da leucociti migrati. La teoria epiteliale sostenuta già da autori antichi come Bischoff[1]), Pflüger[2]), Schrön[3],

[1]) Bischoff, Beweis der von der Begattung unabhängigen per. Reifung und Loslösung der Eier der Säugetiere und des Menschen. Giessen 1884.

[2]) Pflüger, Über die Eierstöcke der Säugetiere und des Menschen. Leipzig 1863.

[3]) Schrön, Zeitschr. f. wiss. Zoologie. 1863.

ecc. è stata confermata largamente da SOBOTTA[1]) e da parecchi altri come HEAPE[2]), HONORÉ[3]), MARSHALL[4]), SANDES[5]) ecc.

2. Secondo altri le cellule luteiniche sarebbero di origine connettivale e propriamente originerebbero dagli elementi della teca interna; tale teoria fu sostenuta dapprima da v. BAER e poi da WAGNER[6]), HIS[7]), KÖLLIKER[8]), PALADINO[9]) ecc.

3. Finalmente altri ammettono un' origine mista, secondo la quale le cellule luteiniche originerebbero in parte dagli elementi della granulosa ed in parte da quelli della teca interna: tale teoria è sostenuta specialmente da WALDEYER[10]), VAN DER STRICHT[11]), RABL[12]) ecc.

Ed ora passiamo allo studio dei materiali metaplasmatici riscontrati nella cellula luteinica:

Dalle ricerche di numerosi autori antichi e recenti risulta la presenza di una notevole quantità di grasso; in epoca recente però si è cercato di indagare la natura di questa sostanza con procedimenti diversi. Così RÉGAUD et POLICARD[13]) descrivono in alcuni mammiferi delle gocciole colorabili coll' ematossilina cuprica e che interpetrano al solito come l' espressione di uno speciale prodotto di secrezione. KAISERLING e ORGLER[14]) per mezzo dell' esame con la luce polarizzata trovano che le gocciole grassose delle cellule luteiniche sono birifrangenti: inoltre essi credono che tale sostanza sia l'espressione di un fenomeno degenerativo »Myelin-Metamorphose«. COHN[15]) istituisce delle ricerche, servendosi come fissatori dei liquidi di TELLYESNICZKY, di ZENKER e come colorazione del processo di PLESSEN-RABINOVICZ: egli descrive delle gocciole di secrezione »Sekrettröpfchen«, le quali si trovano a preferenza nella parte periferica della cellula luteinica; in quanto ai caratteri di queste formazioni »sie schwärzen

---

1) SOBOTTA, Anat. Hefte. 1896—1897. — Ergeb. d. Anat. 1898.

2) Heape, Citato da CIULLA.

3) HONORÉ, Arch. de Biologie. 1900.

4) MARSHALL, Philos. transact. of the R. Soc. of London. 1904.

5) SANDES, Linnean Soc. New South. 1903.

6) WAGNER, Arch. für Anat. und Phys. 1879.

7) HIS, Arch. für mikr. Anat. 1865.

8) KÖLLIKER, (Verhandl. d. Anat. Ges.) Anat. Anz. Bd. XIV.

9) PALADINO, Studii sulla fisiologia dell' ovajo. Struttura, genesi e significato del corpo luteo. Napoli 1879.

10) WALDEYER, Eierstock und Ei. Leipzig 1870.

11) VAN DER STRICHT, Bull. de l'Ac. R. de Méd. de la Belgique. 1901.

12) RABL, Anat. Hefte. 1898.

13) RÉGAUD et POLICARD, C. R. Association des Anat. 1901.

14) KAISERLING und ORGLER, Virchows Archiv. 1902.

15) COHN, Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXI.

sich mit Osmiumsäure und zeigen mittels der Plessen-Rabinoviczschen Färbungsmethode eine aus tiefschwarzen Körnchen bestehende Randzone«.

Loisel[1]), applicando i suoi metodi di ricerca, pensa che le gocciole contenute nella cellula luteinica siano costituite di lecitina.

Mulon[2]) descrive delle formazioni speciali simili a quelle riscontrate nella corteccia surrenale a forma di filamenti, anulari ecc., le quali riducono l'osmio; descrive anche delle gocciole che non riducono primieramente l'O_sO_4.

Cesa-Bianchi[3]) fa uno studio piuttosto accurato del grasso contenuto nelle cellule luteiniche e trova che questo presenta caratteri speciali: si scioglie cioè lentamente in alcool, si colora difficilmente col Sudan e facilmente si decolora in alcool, non si colora con lo Scharlach, riduce poco l'O_sO_4, si colora col processo di Weigert per la mielina. In base a tali caratteri questo autore crede che indubbiamente debba trattarsi di lecitina.

Ciulla[4]) applicando i miei metodi di ricerca conchiude per la natura lecitinica del grasso luteinico.

C. Parhon, G. Dumitresco e C. Nissipesco[5]) affermano che il grasso luteinico presenta gli stessi caratteri di quello delle cellule interstiziali.

Sicchè queste ricerche recenti ci mostrano che il grasso luteinico sia di natura speciale, presentando i caratteri di una lecitina. Oltre a questo lipoide le cellule luteiniche secondo gli autori conterebbero un lipocromo »la luteina«, che si presenta sotto forma di granuli gialli. Secondo alcuni la luteina originerebbe dal sangue stravasato in seguito alla rottura del follicolo; anzi secondo Staedeler, Virchow ed altri sarebbe identica all' ematoidina; secondo altri invece (Thudichum, Piccolo e Leyden) la luteina differirebbe dall' ematoidina per il modo di comportarsi all' analisi spettroscopica.

Dal punto di vista citologico si sono occupati recentissimamente del pigmento contenuto nelle cellule luteiniche Ciulla e Mulon. Ciulla descrive dei granuli di pigmento grasso che si comporta come un lipocromo e dei granuli di pigmento, i quali si mostrano insolubili nei solventi dei grassi.

---

[1]) Loisel, Journ. de l'Anat. et de la Phys. 1904—1905.

[2]) Mulon, C. R. de la Soc. de Biol. 1906. — C. R. Assoc. des Anat. Toulouse 1904.

[3]) Cesa-Bianchi, Intern. Monatsschr. f. Anat. und Phys. 1908.

[4]) Ciulla, Le glandole a secrezione interna in gravidanza. Palermo 1909.

[5]) Parhon, Dumitresco et Nissipesco, Réun. biol. de Bukarest. 1909

Mulon[1]) paragona il pigmento luteinico a quello della corteccia surrenale: egli parte dal principio che tale pigmento sia costituito da una sostanza albuminoide impregnata da un corpo grasso naturalmente colorato o meglio da una combinazione, (una specie di sapone) tra un acido grasso e l'albumina: partendo da questo principio tratta le sezioni prima con un acido e poi con benzina ed in tal caso la colorazione collo Scharlach è quasi nulla: a tali sostanze l'autore dà il nome di »pigments métaboliques«. Oltre a queste sostanze grasse vere e proprie alcuni autori fanno menzione di altre formazioni, che secondo essi sarebbero l'esponente di un prodotto di secrezione, come si verifica nelle cellule glandolari in genere.

Régaud e Policard parlano di filamenti di ergastoplasma, nelle cellule luteiniche del riccio: questi si lasciano colorare dall' ematossilina cuprica (metodo Weigert-Régaud) in grigiastro ed in bleu dall' emateina.

Mulon come abbiamo visto descrive delle figure simili, le quali avrebbero la proprietà di ridurre l'O_sO_4.

Rabl descrive nel suo classico lavoro accanto alle granulazioni grassose altre colorabili colla saffranina.

Pinto[2]) descrive delle gocciole di 2 a 20 μ, rifrangenti, colorabili in nero coll' ematossilina ferrica, in giallo-arancio col van Gieson, in verdastro colla tionina, in violetto col metodo di Weigert. Questo autore esclude che si possa trattare di grasso, di glicogeno, di sostanza amiloide od jalina e tende ad ammettere che esse siano l'espressione di uno speciale prodotto di secrezione.

Cesa-Bianchi descrive accuratamente delle granulazioni perinucleari, colorabili in rosso col metodo di Mann ed in nero coll' ematossilina ferrica: queste si riscontrano in gran numero nei primi periodi di formazione del corpo luteo; questo autore anzitutto esclude che le granulazioni in parola siano costituite di una sostanza grassa, ammette però la possibilità che esse possano dare origine in un' epoca successiva alle gocciole lipoidi (lecitina).

Ciulla servendosi del mio metodo alla fuxina acida-verde jodo dice che nella gatta si notano in alcune e scarse cellule delle granulazioni. Mai almeno nel materiale adoperato, ha potuto riscontrare quanto ha descritto Cesa-Bianchi.

In conclusione dunque nella cellula luteina gli autori hanno descritto: sostanze grasse, figure ergastoplastiche, granuli di secrezione. In quanto alla funzione del corpo luteo non credo di dovere insistere: dirò in linea

[1]) Mulon, C. R. de la Soc. de Biol. 1909.

[2]) Pinto, Annali di Ost. e Gin. 1905.

generale che gli autori recenti ammettono che esso sia una glandola a secrezione interna, secondo alcuni (Mulon, Cesa-Bianchi, Ciulla) paragonabile alla corteccia surrenale. Per avvalorare la secrezione interna del corpo luteo qualche autore, oltre alle immagini speciali riscontrate nelle cellule, invoca altri dati: così ricordo Cohn, il quale dà una grande importanza alla ricchezza di capillari sanguigni; Cesa-Bianchi dà una importanza ancora più grande alla ricchezza di connettivo, il quale avrebbe la stessa disposizione che nella capsula surrenale. In quanto all' argomento invocato da Cohn io credo che realmente abbia un grande valore, ma non è cosi invece per l'argomento invocato da Cesa-Bianchi. Infatti i metodi adoperati in questi ultimi tempi per la dimostrazione del connettivo (Wolf e Maresch — Studnicka — Moschini — Ciaccio — Cesa-Bianchi — Levi ecc.) hanno messo in evidenza una straordinaria ricchezza di connettivo, non solo nelle glandole a secrezione interna, ma anche in altri tessuti.

* * *

Ricerche personali.

Accennerò ai lipoidi della cellula uovo, delle cellule follicolari e delle cellule luteiniche.

Cellula uovo.

Nella cellula uovo i lipoidi sono più o meno abbondanti a seconda della specie animale: infatti è già noto che le sostanze grasse sono tanto più abbondanti nelle uova, quanto più queste sono ricche di vitello nutritivo.

I lipoidi lecitinici, come risulta dalle mie osservazioni, si trovano già in quantità più o meno rilevanti, anche negli ovociti di animali appena nati. Se osserviamo a tale scopo l'ovajo di una gattina neonata, servendoci del mio 1. metodo, notiamo quanto segue:

In alcuni elementi il protoplasma assume una tinta orange o rosea uniforme, mentre si notano delle rare granulazioni lipoidi. In altri elementi invece si osserva, per lo più intorno al nucleo, una zona ricca di lipoidi sia sotto forma di piccoli granuli intensamente ed uniformemente tinti dal Sudan sia sotto forma di vescicole in cui la periferia si mostra più colorata del centro. Tanto nei primi che negli ultimi elementi raramente si osservano dei vacuoli incolori, i quali, come sappiamo, per lo più sono l'esponente dei grassi comuni disciolti dai solventi.

Tutte queste formazioni lipoidi in massima parte riducono scarsamente l'O_sO_4 e coi metodi 2. e 3. assumono una tinta bruna grigiastra, che passa al rosso-bruno dopo la colorazione col Sudan. In questi giovani

ovociti inoltre si riscontrano delle formazioni speciali, le quali con Sudan-Emateina assumono una tinta tale da farci pensare alla sovrapposizione di una tinta orange sopra un fondo bluastro. Tali formazioni possono presentarsi o sotto forma di un corpicciuolo unico della grandezza di 4 μ circa o sotto forma di parecchi granuli più piccoli; d'altra parte la tinta conferita loro dal Sudan può essere più o meno intensa.

Vediamo ora come si comportano i lipoidi nella cellula uovo di animali adulti, pigliando come tipo quella degli anfibii anuri (*Rana-Bufo*), che rappresentano un ottimo materiale di studio. In un ovocito sufficientemente sviluppato possiamo distinguere nel protoplasma tre zone:

1. Una zona perinucleare in cui può riscontrarsi il così detto corpo vitellino di Balbiani.
2. Una zona media.
3. Una zona esterna.

La zona perinucleare non ha di caratteristico che la presenza del corpo vitellino, e quando questo manca, essa si confonde con la zona media. Il corpo vitellino va incontro durante l'evoluzione degli ovociti a trasformazioni importanti: dapprima esso si presenta a guisa di un grosso corpo di forma semilunare irregolare e costituito di granuli piccoli e numerosi molto avvicinati tra loro; mano mano nel suo spessore si notano dei piccoli granuli lipoidi e qualche rara vescicola; finalmente in una fase avanzata il corpo vitellino si mostra costituito in gran parte di granuli e vescicole lipoidi, le quali disgregandosi si diffondono nel protoplasma.

La zona media contiene granuli e vescicole lipoidi sparsi e poco abbondanti: si notano anche ammassi di granuli proteici (?) e lipoidi che nell' insieme sembrano frammenti del corpo vitellino.

La zona esterna è riccamente provvista di lipoidi, i quali sono tanto più abbondanti quanto più l'ovocito si avvicina al suo stato di maturità: questa zona per la sua ricchezza in materiali lipoidi spicca in preparati opportunamente allestiti anche a piccolo ingrandimento. I lipoidi si presentano o sotto forma di granuli più o meno grossi o sotto forma di vescicole: inoltre spesso nelle uova quasi mature si osservano delle piastrine, che dopo trattamento col mio primo metodo appaiono di colorito orange con un alone rosso aranciato; questo può anche essere costituito di finissimi granuli molto ravvicinati tra loro. Tali piastrine non sono, a quanto pare, esclusivamente costituite di lipoidi, poichè esse sono anche visibili in pezzi fissati in alcool od in miscela di Carnoy, però in tali casi non assumono alcuna colorazione col Sudan. Per la loro proprietà e per la loro caratteristica conformazione le formazioni in parola hanno molta somiglianza con formazioni analoghe che si riscontrano nei semi di *Faseolus*

e secondo il mio modo di vedere si possono interpetrare come granuli proteici avvolti ed impregnati di lipoidi.

Finalmente negli ovociti in una fase avanzata di sviluppo, si riscontra ad immediato contatto con la membrana vitellina un sottile strato costituito di grossi vacuoli.

Cellule follicolari.

Le cellule follicolari degli anfibii presentano delle modificazioni strutturali che pare siano in rapporto con lo sviluppo degli ovociti: quanto più questo è inoltrato tanto maggiore è la quantità di lipoidi che si riscontrano nel protoplasma di queste cellule; però tale quantità è piuttosto limitata e si riduce per lo più alla presenza di pochi granuli.

Molto scarsi si presentano i lipoidi nelle cellule follicolari dei mammiferi da me studiati.

Cellule luteiniche.

La cellula luteinica sotto parecchi punti di vista ha molta somiglianza con una cellula cortico-surrenale, come del resto risulta dalle ricerche di Mulon, Cesa-Bianchi e Ciulla; le mie ricerche in linea generale confermano quelle di questo ultimo autore, il quale si è servito degli stessi miei procedimenti di tecnica.

La struttura del corpo luteo, come è noto, varia a seconda dello stadio in cui si trova: per comodità di descrizione distinguerò tre fasi di sviluppo:

In una prima fase si notano delle cellule di forma poliedrica o rotondeggiante con nucleo grosso, provvisto di un evidente nucleolo. Il protoplasma si presenta granuloso e contiene formazioni differenti come: filamenti di ergastoplasma, granuli aventi affinità per date tinta, sostanze grasse. I filamenti di ergastoplasma si riconoscono facilmente per l'affinità che presentano rispetto ad alcuni colori basici come la pironina, quelli della serie delle tioazine, l'ematossilina ferrica o cuprica; nella cavia specialmente si possono riscontrare formazioni che hanno molta analogia coi corpi siderofili delle cellule della zona reticolare della surrenale. I granuli tingibili sono ben visibili in materiale fissato in liquidi osmici o cromici e si lasciano ben colorare sia col mio processo alla fuxina acida, sia con quello all' ematossilina ferrica: anche si rendono più o meno evidenti coll' ematossilina cuprica o colla saffranina. Questi granuli si presentano sotto due aspetti principali e cioè: o sotto forma di granuli fini ordinati in serie o sotto forma di granulazioni piuttosto grosse e sparse senza alcuna regola costante. Questi ultimi corrispondono verosimilmente ai granuli così ben descritti da Cesa-Bianchi, mentre i primi hanno una notevole

somiglianza colle formazioni mitocondriali. In quanto ai rapporti tra queste due specie granulari sembra che i secondi originano a spese dei primi e nelle cellule si trovano dal punto di vista quantitativo in rapporto inverso tra loro.

Per ciò che concerne le sostanze grasse in questa prima fase, le cose variano a seconda che vengano esaminate le cellule situate alla periferia od al centro del corpo luteo. Le cellule centrali presentano scarse vescicole di cui solo un sottile strato periferico è colorato dal Sudan e scarsi granuli lipoidi uniformemente colorati; le cellule periferiche al contrario presentano vescicole e granuli piuttosto abbondanti.

2. In una seconda fase notiamo specie in alcuni animali una netta differenzazione cellulare; schematicamente possiamo distinguerne tre specie e cioè: a) Cellule a protoplasma finamente granuloso e contenenti filamenti di ergastoplasma, granuli tingibili e scarse vescicole grasse e lipoidi. b) Cellule contenenti in maggioranza vescicole con contorno lipoide, e scarsi granuli tingibili. c) Cellule che hanno una grande somiglianza colle cellule siderofile (Ciaccio) della corteccia surrenale; infatti queste presentano un nucleo ipercromatico un protoplasma contenente delle grosse granulazioni lipoidi e tra queste in quantità piuttosto rilevante una sostanza la quale si può presentare sotto forma di granuli oppure omogenea e che ha una spiccata elettività per l'ematossilina ferrica. In questa fase si notano anche delle granulazioni più o meno grosse di pigmento, che presenta gli stessi caratteri di quello della surrenale. Sulla natura di queste ultime formazioni non ho nulla da aggiungere a quanto ho detto a proposito della cellula adiposa e delle cellule interstiziali.

In una terza ed ultima fase le cellule si presentano sotto un unico tipo e cioè come elementi di forma rotondeggiante, a nucleo eccentrico ed atrofico ed a protoplasma completamente infarcito di blocchi lipoidi e pigmentati. Io considero questa forma cellulare come un elemento in degenerazione (metamorfosi lecitinica o lipoide).

Si comprende facilmente che lo scopo di tale suddivisione è quello di rendere più agevole la comprensione del metabolismo della cellula luteinica, poichè tra queste fasi si incontrano sempre degli stadii intermedii.

E. Placenta.

Per quanto riguarda la placenta accennerò ai fatti più salienti, perchè di già mi sono occupato di questo argomento insieme con Ciulla[1]).

[1]) Ciaccio e Ciulla, La Ginecologia moderna. 1909.

È noto già da parecchio tempo che la placenta contiene del grasso, destinato a passare nel feto: in quest'ultimi tempi la dimostrazione di una lipasi placentare ha fatto anche intravedere come in quest' organo il grasso proveniente dal sangue materno dovesse subire delle modificazioni. In tal caso si comprende di leggieri come il problema debba assumere lo stesso aspetto di quello riguardante l' assorbimento del grasso intestinale e che finora non ha avuto una soluzione definitiva. Infatti anche a proposito della placenta ci troviamo di fronte a due opinioni fondamentali e cioè: o che il grasso venga assorbito sotto forma corpuscolare oppure sotto forma solubile (sapone).

Riguardo poi alla distribuzione del grasso placentare abbiamo parecchi lavori, tra i quali ricordo quelli di Hofbauer[1]), Costa[2]), Montanelli[3]), Fossati[4]). Le ricerche di Hofbauer e di Fossati tendono a dimostrare che appunto la distribuzione del grasso placentare abbia una grande somiglianza con quella dell' intestino durante l'assorbimento del grasso; sicchè essi ammettono che il grasso circolante sia sintetizzato dalla placenta.

Montanelli invece crede che il grasso assorbito sotto forma di sapone nel villo placentare trova solo nell' organismo fetale le condizioni adatte per la sintesi: egli così tenderebbe ad ammettere che le goccioline adipose che si trovano nel villo placentare fossero l'esponente di un processo degenerativo.

* * *

Ricerche personali.

Come ho già accennato, di questo argomento mi sono recentemente occupato in collaborazione col Dr. Ciulla, sicchè in questa esposizione ricorderò brevemente i punti più salienti, in base a ricerche istituite su placente mature di cavia, gatta e donna.

Esaminando un villo placentare di cavia fissato in liquido di Flemming o di Hermann ed incluso in gelatina dopo lavaggio in acqua corrente notiamo del grasso in quantità notevole e la cui distribuzione e natura sono variabili: così troviamo delle gocciole di circa 2 μ di diametro sparse nel protoplasma sinciziale, di cui la maggior parte si presentano di colorito grigio-brunastro, mentre in piccola parte si presentano di colorito nero ebano. In corrispondenza poi del capillare centrale si osserva un orlo

---

[1]) Hofbauer, Grundzüge einer Biologie der menschlichen Placenta. W. Braumüller, Wien und Leipzig 1905.

[2]) Costa, Ann. di Ost. e Ginec. 1904—1905.

[3]) Montanelli, Ibidem. 1906.

[4]) Fossati, Ibidem. 1906.

caratteristico in cui il grasso si trova distribuito sotto forma di granuli finissimi di colorito grigio-brunastro.

L'esame di preparati allestiti col mio metodo 1. ci mostra quanto segue: al posto dei grossi granuli si notano per lo più dei vacuoli totalmente incolori e solo qualche vescicola in cui il contorno è colorato dal Sudan. Al contrario i granuli finissimi, situati in vicinanza del capillare centrale si mostrano intensamente colorati.

Gli stessi fatti in linea generale si riscontrano anche in placente di donna; in questa troviamo lipoidi anche nelle cellule di Langhans, sotto forma di granuli e di vescicole: tanto quelli che questi presentano un diametro di circa 2 μ.

È assolutamente da escludersi l'idea che in questi casi possa trattarsi di un processo degenerativo, perchè da molti caratteri, che possiamo avere a nostra disposizione, si vede che ci troviamo di fronte ad elementi attivamente funzionanti. Però oltre a questo processo così attivo e vitale e la cui finalità forse è quella di somministrare grassi e lipoidi all' organismo fetale, assistiamo anche ad un vero processo degenerativo. In alcuni punti infatti troviamo degli elementi plurinucleati, liberi, con evidenti fenomeni degenerativi nucleari come picnosi, cariolisi, vacuolizzazione dei nuclei ecc., e contenenti nel protoplasma delle grosse granulazioni e vescicole in quantità rilevante. In questi casi si tratta evidentemente di quella speciale forma degenerativa, da me denominata metamorfosi lecitinica.

Da questa breve esposizione s'intravede facilmente l'attivo metabolismo del villo placentare; credo inutile dovere insistere sull' interpetrazione delle immagini istochimiche, poichè ne ho già sufficientemente scritto nel corso di questo lavoro. Credo però opportuno aggiungere un altro dato interessante e cioè che nel protoplasma del villo oltre ai lipoidi si riscontrano granulazioni colorabili coll' ematossilina ferrica e la fuxina acida (metodo IA, IB), le quali nella gatta assumono una disposizione a rosario.

Per quanto chiaro risulti il metabolismo lipoide nel protoplasma del villo, per tanto è difficile di potere stabilire sotto quale forma e costituzione i lipoidi passano nel sangue: per quanto diligentemente abbia osservato in questo non si riscontrano sostanze grasse, sicchè a tal proposito solo si possono formulare delle ipotesi.

Cap. 3. Elementi cellulari della corteccia surrenale.

Sin dalle ricerche degli antichi istologi si è rilevato che le cellule della corteccia surrenale contengono delle granulazioni di natura grassosa. Una

delle prime descrizioni più accurate si deve a MOERS[1]), il quale studia il modo di comportarsi del grasso surrenale in diverse specie animali: secondo questo autore tale sostanza è distribuita nella capsula surrenale sotto forma di granulazioni e di goccioline di grandezza differente, molto numerose nell' uomo, nei carnivori e nei roditori, meno numerose nei ruminanti e nei pachidermi.

KÖLLIKER[2]) nota egualmente una differenza quantitativa del grasso surrenale nei diversi animali ed inoltre che esso aumenta coll' età.

HENLE[3]) trova che il grasso surrenale dell' uomo aumenta coll' età ed è specialmente abbondante nella parte media della corteccia.

Dopo tali ricerche fondamentali la questione relativa alla presenza del grasso nella corteccia surrenale è diventata classica e contiamo numerose ricerche, le quali studiano la distribuzione di questa sostanza in differenti animali e nelle diverse zone delle corteccia [GRANDRY[4]), EBERTH[5]), GOTTSCHAU[6]), VON BRUNN[7]), RABL[8]) ecc.].

Fino a questo punto però gli autori suddetti parlano di grasso in generale senza però stabilirne le sue proprietà fisiche o chimiche e la sua natura.

Uno dei primi autori che comincia a differenziare il grasso surrenale dal comune grasso è MITSUKURI[9]), il quale nel coniglio trova che il grasso distribuito nelle diverse zone della corteccia surrenale non annerisce coll' acido osmico, resiste all' alcool, ma non è più visibile dopo l'inclusione in paraffina.

DOTOJEWSKI[10]) ha anche descritto nel gatto, nella cavia e nel coniglio delle granulazioni, le quali, benchè solubili nell' etere non reagiscono coll' acido osmico.

È merito però di ALEXANDER[11]) di avere per il primo riconosciuto la natura del grasso surrenale per mezzo di ricerche chimiche, in base alle quali ha conchiuso trattarsi di lecitina, la quale si troverebbe in varie proporzioni a seconda degli animali. Riguardo al comportamento istochimico

---

1) MOERS, Arch. f. Path. Anat. und Phys. 1894.
2) KÖLLIKER, Handbuch der Gewebelehre des Menschen. Leipzig 1867.
3) HENLE, Zeitschr. für rat. Medizin. 1865.
4) GRANDRY, Journ. de l'Anat. et de la Phys. 1867.
5) EBERTH, Strickers Handbuch d. Lehre v. d. Gew. d. Menschen u. d. Tiere. 1871.
6) GOTTSCHAU, Arch. f. mikr. Anat. 1883.
7) VON BRUNN, Ibidem. 1872.
8) RABL, Ibidem. 1891.
9) MITSUKURI, Anat. Journ. of Micr. Sc. 1882.
10) DOSTOJEWSKI, Arch. f. mikr. Anat. 1886.
11) ALEXANDER, Zieglers Beiträge. 1891.

questo autore ha notato che le granulazioni adipose della surrenale assumono coll' acido osmico una tinta brunastra.

Hultgren e Andersson[1]) nel cane, nel gatto e nel coniglio descrivono egualmente delle granulazioni, le quali si differenziano dal grasso ordinario per il loro modo di comportarsi coll' acido osmico, il che secondo gli autori sarebbe dovuto alla loro natura lecitinica. Tali granulazioni nel gatto e nel coniglio sarebbero più numerose nella zona media, mentre nel cane sarebbero più numerose nella zona esterna.

Plecnik[2]) ha studiato particolarmente le differenze istochimiche tra il grasso surrenale e quello perirenale, epicardico ecc. notando che il primo gode delle proprietà seguenti:

1. Si annerisce con acido osmico solo dopo passaggio in alcool.
2. Dopo osmizzazione si scioglie in xilolo, cloroformio ecc.
3. Si colora in nero, trattando per 24 ore a 38° con acido osmico le sezioni di pezzi conservati in liquido di Müller per parecchio tempo ed inclusi in celloidina.
4. Infine il grasso surrenale si lascia colorare col metodo di Weigert per la mielina nelle sezioni di pezzi trattati con liquido di Müller ed ottenute sia per congelamento sia dopo inclusione in celloidina.

Kaiserling ed Orgler[3]) notano che il grasso surrenale oltre a comportarsi verso l'acido osmico in maniera differente dal grasso ordinario, presenta all' osservazione colla luce polarizzata il fenomeno della birifrangenza: questi autori in base alle loro ricerche identificano tale sostanza come mielina.

Bernard e Bigart[4]) studiano dettagliatamente la distribuzione e le proprietà istochimiche del grasso surrenale della cavia; questi autori distinguono due specie di grasso e cioè un grasso stabile ed un grasso labile: il primo riduce primieramente l'O_sO_4 ed è insolubile dopo osmizzazione in xilolo; il secondo riduce l'O_sO_4 dopo passaggio nell' alcool ed è dopo osmizzazione solubile in xilolo, ma poco o nulla in etere di petrolio. Il grasso labile, che secondo questi autori sarebbe una lecitina, si troverebbe localizzato nelle surrenale della cavia specialmente nella zona spongiosa di Guyesse. D'altra parte questi autori confermano le ricerche di Alexander per quanto riguarda la presenza di lecitina, ricercata chimicamente, nella corteccia surrenale: essi anzitutto, hanno identificato qualitativamente

[1]) Hultgren und Andersson, Scand. Arch. f. Phys. 1899.
[2]) Plecnik, Arch. f. mikr. Anat. 1902.
[3]) Kaiserling und Orgler, Virchows Archiv. 1902.
[4]) Bernard et Bigart, Bull. et Mém. de la Soc. Anat. de Paris. 1902. — C. R. Soc. de Biol. 1903.

la lecitina per la formazione del precipitato caratteristico, solubile nell' etere, in presenza di una soluzione alcoolica di cloruro di platino. Inoltre gli stessi autori in collaborazione con H. Labbé hanno istituito delle ricerche quantitative sui grassi fosforati della surrenale ed hanno trovato che il rapporto tra il grasso fosforato ed il grasso totale è del 45,3% nel cavallo 48,8% nel montone. 52,7% nel coniglio.

Mulon[1]) ha confermato in gran parte le ricerche degli autori precedenti per la capsula surrenale di cavia e propone di chiamare la zona spongiosa col nome di zone lécithinogène: inoltre egli ammette nella zona reticolare la presenza di una sostanza grassa che impregna gli elementi cellulari e che forse è in combinazione con sostanze proteiche (lecitalbumina?); ammette anche che una parte del pigmento sia un lipocromo.

Bonnamour[2]) applicando alla corteccia surrenale il metodo di Régaud negli anfibii e nei mammiferi descrive dei granuli e delle vescicole colorabili in bleu; egli trova in ciò una prova di più per ammettere che il grasso surrenale sia una lecitina.

Federici[3]) nutrendo degli animali con grasso colorato non trova mai questo nelle surrenali. dal che ne deduce che il grasso surrenale non è un grasso d'infiltrazione.

Babes[4]) descrive anche nelle surrenali la presenza di cristalli costituiti di sostanza grassa.

Celestino da Costa[5]) ammette che la siderofilia della corteccia surrenale sia dovuta ad una sostanza grassa.

Parecchi altri autori hanno studiato in differenti animali il grasso surrenale (Grynfeldt[6]), Moschini[7]), Diamare[8]) ecc.), confermando in massima parte le ricerche degli autori sù menzionati.

Dopo avere così esposto le nostre conoscenze sulla disposizione e sulla natura del grasso della corteccia surrenale accennerò brevemente al suo modo di comportarsi in alcune condizioni fisiologiche e patologiche. Tra le condizioni fisiologiche si è rivolta l' attenzione alla vecchiaja, al digiuno. al letargo, alla gravidanza.

---

[1]) Mulon, C. R. de la Soc. de Biol. 1902, 1903, 1904. — C. R. de l'Ass. des Anat. Liége. 1903.

[2]) Bonnamour, C. R. Ass. des Anat. Liége 1903. — Phén. de sécr. de la surr. des Mamm. Lyon 1905.

[3]) Federici, Lo sperimentale. 1903.

[4]) Babes, Réun. Biol. de Bukarest. 1908.

[5]) Celestino da Costa, Anat. Anzeiger. 1907.

[6]) Grynfeldt, Journ. de l'Anat. et de la Phys. 1904.

[7]) Moschini, Studio sulla capsula surrenale. Pavia 1907.

[8]) Diamare, Arch. Zoologico. 1903.

Per quanto riguarda la vecchiaja pare che almeno in alcune zone come nella fascicolata la funzione adipogenetica sia esaltata (Diamare).

Per quanto riguarda il digiuno Martinotti[1]) per il primo ha notato che le capsule surrenali di cavia sono aumentate di volume e congeste. Federici, diminuendo gradatamente l'alimentazione alle cavie fino alla morte per inanizione, nota che dopo 15 a 20 giorni il grasso corticale non presenta una manifesta diminuizione in confronto di quello degli animali di controllo.

Per quanto riguarda il letargo già Abelous e Langlois[2]) avevano notato che le capsule surrenali della rana durante l'inverno si presentano diminuite di volume. Baroncini e Berretta[3]) istituendo delle ricerche sui moscardini e sui pipistrelli hanno notato che specie le cellule delle zona fascicolata presentano un aspetto che ricorda il rigonfiamento torbido. Federici, studiando la surrenale di ghiri e di pipistrelli durante il letargo in confronto con quella degli stessi animali nel periodo di veglia ha visto che le cellule corticali contengono la stessa quantità di grasso.

Per quanto riguarda la gravidanza le prime ricerche citologiche sono dovute a Guyesse[4]) il quale tra le altre modificazioni indotte da questo stato nella surrenale di cavia, ha notato un aumento dei vacuoli delle sua zona spongiosa. Questo autore erroneamente ha creduto che tali vacuoli fossero l'esponente di una secrezione liquida: oggi è ad esuberanza dimostrato che i vacuoli degli spongiociti di Guyesse altro non rappresentino che il grasso disciolto dalle manipolazioni di tecnica. Le ricerche ulteriori hanno dimostrato che la corteccia surrenale durante la gravidanza presenta in confronto collo stato normale una notevole quantità di grasso (Mulon, Diamare, Gaifami[5]) ecc.).

C. Ciaccio[6]) ha inoltre notato un aumento delle sue cellule siderofile, le quali secondo Bonnamour rappresentano un elemento in cui la funzione lipoide è in uno stadio più avanzato. Recentissimamente Ciulla[7]) ha portato un notevole contributo sull' argomento: Egli ha anzitutto istituito delle ricerche chimiche, dalle quali risulta che il rapporto tra il grasso ed il peso della glandola è del 10% nelle coniglie normali, del 18% nelle

---

1) Martinotti, Arch. ital. de Biol. 1892. — Annali di Fen. e Sc. affini. 1893.
2) Abelous et Langlois, C. R. de la Soc. de Biol. 1891.
3) Baroncini e Berretta, Riforma medica. 1901.
4) Guyesse, Journ. de l'Anat. et de la Phys. 1901.
5) Gaifami, Atti della Soc. it. di Ostetricia e Gin. Vol. XIII.
6) C. Ciaccio, Anat. Anzeiger. 1903.
7) Ciulla, Gli organi a secr. int. in gravidanza. Palermo 1909.

coniglie gravide: che il rapporto tra il grasso fosforato ed il grasso comune è del 50% nelle coniglie normali e del 72% nelle coniglie gravide. Inoltre, applicando i miei metodi di ricerca per lo studio istochimico dei lipoidi, ha trovato una corrispondenza mirabile tra i dati chimici ed istochimici: infatti quanto più è inoltrata la gravidanza tanto più abbondano i lipoidi dimostrabili col mio processo; particolarmente numerose e ricche di lipoidi si mostrano le cellule siderofile di Ciaccio.

Per quanto riguarda la maniera di comportarsi delle sostanze grasse in condizioni patologiche le ricerche sono molto numerose: mi contenterò perciò di esporre i risultati generali, tanto più che la maggior parte degli autori parla di aumento o diminuzione del grasso, senza cercare di stabilire delle differenze qualitative. Da quest' ultimo punto di vista troviamo un accenno nelle ricerche di Bernard e Bigart[1]), di Bardier e Bonne[2]) e di Bonnamour[3]).

Bernard e Bigart hanno istituito ricerche sulle surrenali durante le intossicazioni acute e croniche, nelle infezioni sperimentali e nelle malattie umane. Questi autori giungono alle seguenti conclusioni:

Nelle intossicazioni ed infezioni poco profonde aumenta spesso notevolmente il grasso labile »stato di iperepinefria«.

Nelle intossicazioni ed infezioni profonde il grasso labile diminuisce fino a scomparire »stato di ipoepinefria«.

Bardier e Bonne trovano dei fatti simili nella tetanizzazione muscolare sperimentale.

Bonnamour istituisce delle ricerche nelle intossicazioni da adrenalina e da pilocarpina, conchiudendo che »la graisse surrénale augmente toutes les fois que les produits toxiques augmentent dans l'organisme. Il serait intéressant de rechercher aux depens de quelles variétés de graisses, colorées par l'acide osmique ou par l'hématoxyline cuprique, se fait cette augmentation, et si l'élaboration plus active d'une des ces variétés répond en quelque sorte à des conditions physiologiques particulières; malheureusement l'état de nos recherches ne nous permet pas encore de répondre à cette question«.

Recentemente Sinibaldi[4]) in alcune sue ricerche sull' intossicazione difterica sperimentale ha trovato in alcuni casi aumento delle cellule siderofile.

---

[1]) Bernard et Bigart, Journ. de Phys. et Path. gén. 1902 e 1906.

[2]) Bardier et Bonne, Ibidem. 1903.

[3]) Bonnamour, Les phén de sécr. chez la caps. sur. des Mamm. Lyon 1905.

[4]) Sinibaldi, Arch. di Anat. patol. e scienze affini. 1907.

Ricerche personali.

Se diamo uno sguardo agli organi omologhi della corteccia surrenale dei pesci, degli anfibii, dei rettili e degli uccelli vediamo che essi non sono differenziati come nei mammiferi, ma al contrario sono costituiti da una sola varietà di cellule. Queste esaminate in condizioni normali presentano un protoplasma contenente in massima parte numerose gocciole della grandezza di 2 a 4 μ, in cui il contorno più o meno spesso assume col mio processo 1. una tinta intensa rosso-aranciata, mentre il centro o prende una tinta rosea o rimane incolora. Si notano anche tra le gocciole dei vacuoli perfettamente incolori e dei granuli di piccole dimensioni intensamente tinti in rosso-arancio.

Nei mammiferi notiamo una certa differenza nella distribuzione dei lipoidi a seconda delle specie ed a seconda delle zone esaminate.

Nella zona glomerulare della cavia e del coniglio le strutture lipoidi si presentano per lo più sotto forma di granuli, variabili per grandezza, uniformemente ed intensamente tingibili col Sudan; piuttosto rare sono le vescicole. Nelle zona ad archi del cane, che corrisponderebbe alla zona glomerulare predominano invece le vescicole anzichè i granuli. Nella zona glomerulare dell' uomo si notano quasi in eguale proporzioni i granuli e le vescicole lipoidi.

La zona fascicolata, specialmente della cavia e del coniglio, anche osservata a piccolo ingrandimento col mio 1. processo lascia distinguere agevolmente 2 strati, di cui l'esterno spicca per il suo colorito più intenso. Osservando a forti ingrandimenti notiamo due specie cellulari, già da me distinte in precedenti lavori e cioè: le cellule fondamentali e le cellule siderofile. Le cellule fondamentali presentano vescicole della grandezza di 2 a 3 μ circa; queste in genere sono così fittamente stipate da dare alle cellule un aspetto alveolo-reticolare; nello strato più esterno le vescicole presentano in gran parte un contorno lipoide più o meno spesso, mentre nello strato più interno tale contorno è sottile o manca addirittura: tra le vescicole infine, specie nelle cellule dello strato esterno si notano dei piccoli granuli lipoidi. Adoperando il mio metodo 2. e 3. si notano gocciole tinte in nero, gocciole di cui il centro è bruno-nerastro mentre il contorno è rosso-bruno ed infine dei granuli piccoli intensamente tinti in rosso-bruno.

Le cellule siderofile si distinguono subito oltre che per la disposizione dei lipoidi anche per altri caratteri, che precedemente ho nettamente stabilito: il nucleo si presenta più piccolo di quello delle cellule fondamentali ed ipercromatico; la forma delle cellule anzicchè poliedrica è piriforme,

triangolare; in corrispondenza degli spigoli si vedono spesso dei prolungamenti protoplasmatici a forma di virgola, i quali s'insinuano tra le cellule fondamentali. Per quanto riguarda la disposizione dei lipoidi dobbiamo distinguere due tipi di cellule siderofile: In un primo tipo il protoplasma contiene parecchie formazioni lipoidi ovalari o rotonde piuttosto grandi ed intensamente ed uniformemente tinte in rosso-aranciato; la sostanza situata tra queste formazioni si presenta per lo più omogenea e si lascia tingere intensamente dai colori acidi e dall' ematossilina ferrica. In un secondo tipo le formazioni lipoidi sono scarse ed abbonda invece il protoplasma inter-lipoide; queste cellule inoltre presentano un nucleo quasi picnotico.

La zona reticolare si distingue nettamente dalla zona precedente solo in alcuni animali, come la cavia, l'uomo ed il coniglio; poco invece nel cane: tra questi animali la cavia è il miglior materiale di studio.

Per ciò che concerne i lipoidi notiamo quanto segue:

1. Le formazioni intese col nome di corpi siderofili (Guyesse-Ciaccio) si presentano tinte in orange più o meno intenso come se fossero imbevute o avvolte da una sostanza lipoide: dico imbevute o circondate e non già costituite interamente, perchè i corpi siderofili si osservano anche in preparazioni in cui le sostanze grasse sono state disciolte dai reattivi.

2. Nel protoplasma si trovano anche granuli e vescicole lipoidi: queste ultime però, a differenza della zona fascicolata, si presentano piuttosto rare.

3. Finalmente in questa zona ed in alcuni animali si osservano granuli e zolle pigmentarie, che hanno attirato sempre l'attenzione dei ricercatori. Abbiamo visto sopra che alcuni autori considerano il pigmento surrenale come un pigmento grasso, come un lipocromo; su questo punto ha specialmente insistito Mulon. Dalle mie ricerche risulta che tale modo di vedere non è accettabile, perchè il pigmento surrenale, come quello che si può riscontrare nella cellula adiposa e dei caratteri del quale ho sufficientemente detto, non solo non presenta le reazioni caratteristiche dei lipocromi, quanto è dimostrabile dopo l'azione dei solventi dei grassi. Non insisto sui caratteri microchimici, rimettendomi a quanto ho detto a proposito della cellula adiposa.

* * *

Esposta così la distribuzione generale dei lipoidi nella corteccia surrenale accennerò al modo di comportarsi di queste sostanze in alcune condizioni sia fisiologiche che patologiche:

I. Per quanto riguarda l'età pare che i lipoidi siano dimostrabili anche negli animali appena nati, ed in proporzioni non minori che nell' adulto, specialmente nell' uomo e nel cane.

Per ciò che concerne l'origine dei lipoidi surrenali notiamo una grande analogia con quanto ho esposto riguardo alla citogenesi delle cellule adipose. In uno stadio primitivo, che in generale riscontriamo nel periodo embrionale ed in alcuni animale anche alla nascita, la cellula cortico-surrenale si presenta costituita di numerosi granuli rotondi della grandezza di 1 μ circa. Questi granuli coll' ematossilina ferrica prendono una tinta grigia, colla fuxina acida una tinta rosa, col mio 1. processo si colorano in orange pallido. In stadii sucessivi si notano in quantità sempre crescenti granuli e vescicole lipoidi che, pare, sono in intima relazione coi granuli suddetti.

Nella vecchiaja i lipoidi diminuiscono sempre più notevolmente, mentre predominano i grassi comuni.

II. Ho istituito anche delle ricerche in ricci e ghiri durante un inoltrato letargo invernale e ho potuto notare contrariamente alle osservazioni di Federici che il grasso in genere è diminuito e che i lipoidi sono molto scarsi. In pari tempo nel protoplasma si osservano granulazioni che hanno le stesse proprietà di quelle che ho testè descritto nelle cellule cortico-surrenali di animali embrionali o neonati.

III. Per la gravidanza mi son servito di cavie, cagne e conigli e son d'accordo con quanto recentemente ha osservato Ciulla, servendosi degli stessi miei metodi di ricerca. I lipoidi aumentano spesso straordinariamente a spese dei grassi comuni e ciò specialmente nella parte più esterna della zona fascicolata e nella zona reticolare. Le cellule siderofile sono spesso abbondantissime e con grande frequenza si notano granuli e vescicole lipoidi nei vasi della zona reticolare e della midolla.

IV. Finalmente e sempre dallo stesso punto di vista ho istituito numerose ricerche in svariate condizioni patologiche e sperimentali come: digiuno, castrazione, ipertrofia compensativa; intossicazioni con arsenico e tossina difterica, infezioni varie sperimentali, malattie umane.

Per quanto riguarda il digiuno nella maggior parte dei casi, come del resto ho già dimostrato in precedenti ricerche e d'accordo con Martinotti, la corteccia surrenale si presenta ipertrofica ed iperfunzionante. Dopo un digiuno di 5 o 6 giorni i lipoidi sono abbondanti, mentre diminuiscono i grassi comuni; le cellule siderofile sono aumentate di numero.

Negli animali castrati si nota egualmente iperfunzione delle surrenali; io per il primo ho dimostrato ciò nelle rane ed il fatto è stato confermato da Marassini nei mammiferi. Il fenomeno principale con cui si manifesta

l'iperfunzione della corteccia surrenale in queste condizioni è rappresentato da aumento del grasso in genere e dei lipoidi in ispecie; egualmente aumentate sono le cellule siderofile.

Gli stessi fatti si riscontrano nell' ipertrofia compensatoria: risultati importanti ho ottenuto in un cane al quale dopo un mese circa dall' asportazione di una capsula surrenale ho inoculato una dose minima di tossina difterica: in questo animale la corteccia della surrenale lasciata, in confronto con quella asportata, presenta in tutte le zone una straordinaria quantità di lipoidi e quasi assenza di grassi comuni: i lipoidi sono rappresentati da granuli di grandezza varia da 1 a 4 μ uniformemente ed intensamente colorati in rosso-arancio dal metodo 1. ed in rosso-bruno dal metodo 2. e 3.

Per quanto riguarda le infezioni e le intossicazioni dobbiamo distinguere tre casi: 1. quando l'infezione od intossicazione è moderata in modo da far sopravivere l'animale notiamo aumento dei lipoidi; 2. quando quelle sono gravi, si nota per lo più aumento dei grassi comuni e diminuzione dei lipoidi; 3. finalmente in alcune infezioni od intossicazioni croniche si può osservare diminuzione tanto dei grassi quanto dei lipoidi.

Il meccanismo col quale si manifesta l' aumento dei lipoidi in questi casi è sempre lo stesso: presenza di granulazioni; le forme vescicolari diventano sempre più scarse; abbonda il pigmento ed aumentano, spesso considerevolmente, le cellule siderofile.

* * *

Sino a questo punto abbiamo appreso il modo di comportarsi dei lipoidi surrenali in condizioni normali e patologiche: dall' esposizione dei fatti si rileva che la corteccia surrenale è un tessuto a prevalente metabolismo lipoide. Adesso cercherò di dare uno sguardo d'insieme alla fisiopatologia generale di questo organo e fornire nello stesso tempo dei dati i quali possano servire di guida a chi volesse intraprendere delle ricerche fisio-patologiche su tale argomento. Ciò non è inutile se si considera la grande confusione che regna su questo soggetto per quanto riguarda la maniera d'interpetrare la struttura e la funzione generale. Cercherò perciò di essere più breve e più chiaro che mi sia possibile.

Se consideriamo la corteccia surrenale attraverso l'ontogenesi e la filogenesi scaturisce una nozione fondamentale e sulla quale ho già insistito in lavori precedenti e cioè che essa negli animali inferiori e nei mammiferi nei primi tempi della vita extrauterina è costituita da un tipo cellulare indifferenziato e cioè da una specie di cellule deputate al metabolismo dei lipoidi. Nei mammiferi adulti, prendendo come tipo la cavia e l'uomo, assistiamo ad una differenzazione fondamentale per cui oltre al tipo cellulare

su descritto e che costituisce la zona fascicolata (Arnold) o la zona media (Ciaccio) troviamo due altri tipi cellulari: di questi uno non lascia riconoscere una funzione ben definita (zona glomerulare di Arnold o esterna di Ciaccio); pare però, seguendo alcuni autori, come Gottschau e Mulon, che questo tipo cellulare serva alla rigenerazione degli altri elementi corticali. L' altro tipo cellulare e che costituisce la zona reticolare e la parte più interna della fascicolata (zona interna di Ciaccio) gode oltre che della proprietà degli altri due tipi cellulari e cioè di un metabolismo lipoide, di un altro attributo: e cioè che in questo tipo cellulare si notano delle immagini citologiche, che in alcuni mammiferi sono strettamente legate al metabolismo del pigmento.

In conclusione dunque tra gli elementi della corteccia possiamo distinguere certamente due tipi cellulari fondamentali i quali si collegano con due tipi metabolici e cioè: a) un tipo a metabolismo lipoide, b) un tipo a metabolismo pigmentario-lipoide.

A questi due tipi fondamentali dobbiamo aggiungere dei sotto-tipi, la cui importanza è notevole, perchè essi sono l'esponente di stadii funzionali differenti.

A. Il tipo cellulare a metabolismo lipoide fondamentalmente è rappresentato da elementi nei quali, tenendo conto dei fatti sopra esposti (ontogenetici, filogenetici e fisio-patologici), possiamo schematizzarne il metabolismo come segue:

Anzitutto bisogna distinguere una fase primordiale, dimostrabile nel periodo embrionale, in parte nel letargo ed in alcuni tumori a tipo corticosurrenale (ipernefromi): in questa fase la cellula cortico-surrenale è costituita prevalentemente di granuli, che si possono considerare da un certo punto di vista come granuli di Altmann o plasmosomi di Arnold. In una fase successiva, e forse sotto l'influenza dei granuli cellulari del tipo precedente, originano due formazioni principali e cioè: sostanze grasse e una sostanza speciale la quale con tecnica opportuna mostra una grande affinità per la fuxina acida. Vediamo adesso il modo di comportarsi di queste due formazioni e se esistano tra loro dei rapporti funzionali.

Negli stadii di scarsa attività fisiologica o patologica le cellule corticosurrenali contengono a preferenza nel loro protoplasma grassi comuni in parte riducenti primieramente l'O_sO_4 ed in parte dopo passaggio in alcool: d'altra parte questi ultimi non sono influenzati dal trattamento cromico. La prima specie di grasso è evidentemente un grasso non suturato; la seconda specie invece è un grasso saturo. A torto dunque la maggior parte degli autori francesi considerano come lecitina questa seconda varietà di grasso: tale fatto non si può constatare in base al solo trattamento

con O_sO_4, appunto perchè le lecitine contenendo a preferenza nella loro molecola acido palmitico e stearico si comportano di fronte all' O_sO_4 come questi ultimi acidi grassi.

A misura che le cellule entrano in attività troviamo in quantità più o meno rilevanti dei grassi, che mentre da una parte riducono poco l'O_sO_4 o solo secondariamente, sono influenzati dal trattamento coi sali di cromo: questi lipoidi si mostrano sia sotto forme di vescicole sia sotto forma di granuli. Ora una domanda s'impone: d'onde e come originano questi lipoidi? In una prima fase di attività vediamo che questi si depositano alla periferia della gocciola adiposa e l'invadono sempre più; in tal guisa osserviamo vescicole che col mio processo presentano un sottile alone periferico più o meno intensamente colorato dal Sudan e un centro quasi incoloro; osserviamo vescicole in cui quest' orlo periferico è più o meno spesso ed il centro è anch' esso colorato, sebbene debolmente; in stadii di attività avanzata vediamo come tali vescicole si presentano intensamente e totalmente colorate, e finalmente granuli lipoidi di grandezza differente, da frazioni di μ sino a 2 μ, situati tra le vescicole. In generale accade che, osservando una sezione di surrenale trattata col mio 1. metodo, si distinguono in diverse proporzioni, a seconda lo stato di funzionalità, 2 tipi cellulari principali, dei quali uno si distingue nettamente per il nucleo ipercromatico e per il protoplasma carico di lipoidi.

Per quanto riguarda le formazioni fuxinofile queste si presentano sotto forma di granuli finissimi, di piccole vescicole, di corpi fusiformi, bacillari ecc. e pare che esse aumentino a misura che aumentano i lipoidi, di maniera che sono più abbondanti nel secondo tipo cellulare su esposto.

Le colorazioni con ematossilina ferrica o con fuxina acida-verde jodo ci fanno notare una serie di cellule, di cui la prima fase è rappresentata da elementi con scarsi granuli neri o rossi, a seconda la colorazione, situati tra le gocciole grasse ed un ultima fase in cui queste ultime ridotte in numero ed esclusivamente di natura lipoide sono immerse in mezzo a numerose formazioni siderofile o fuxinofile. Questi ultimi elementi anche a piccolo ingrandimento spiccano per il loro colorito nero o rosso violetto e per i caratteri del nucleo intensamente ipercromatico, quasi picnotico (cellule siderofile). Dall' esame di numerosi preparati a me sembra che tra quest' ultime formazioni ed i lipoidi esista un' intima relazione, ma non ho dati sufficienti per potere stabilire esattamente la natura di tali rapporti, solo si possono formulare dell' ipotesi che mi riserbo di esporre alla fine di questo lavoro.

Rimane stabilito adunque che il metabolismo lipoide del tessuto corticosurrenale è tanto più accentuato quanto più avanzata è la funzionalità.

B. Per quanto riguarda gli elementi a metabolismo pigmentario in base ai fatti su esposti a me sembra che il pigmento non ha nulla di speciale e che in nulla si differenzia da quello delle cellula adiposa e di altri elementi come appresso vedremo.

Infine ricordo solo di passaggio alcune formazioni della corteccia surrenale che io ho altrove descritto sotto il nome di sostanza ossifila, la quale è stata trovata da alcuni e messa in dubbio da altri. Sulla sua origine e natura nulla ancora posso stabilire di concreto: a me pare però che essa non abbia che vedere coi lipoidi, almeno direttamente, ma che invece sia in rapporto con le granulazioni fuxinofile.

Cap. 4. Tessuto nervoso.

Obersteiner[1]) sin dal 1888 studiò accuratamente la distribuzione del pigmento giallo nelle varie cellule nervose e per il primo stabili in base ai caratteri microchimici che si trattasse di una sostanza grassa o simil-grassa e da ciò il nome di »Fett-Pigment«. Riguardo alle proprietà di questo pigmento-grasso egli così si esprime: »das helle Pigment färbt sich mit Überosmiumsäure, sowie häufig auch bei Hämatoxylinfärbung nach Weigert etwas dunkler« e conchiude dicendo che: »das helle Pigment ist ein dem Fette sehr nahestehender Körper«.

Pilcz[2]) sotto la guida e per consiglio di Obersteiner studio l'epoca in cui il pigmento grasso comparisce nelle cellule nervose dell' uomo, affermando che esso già si può trovare presente anche all' età di un anno, ma diventa un prodotto costante solo nel secondo decennio di vita. Rosin[3]) in parecchi lavori afferma che il cosidetto pigmento giallo sia un prodotto costante della cellula nervosa dell' uomo, ma che esso manchi nei mammiferi da lui studiati. Per quanto riguarda la natura di questa sostanza l'autore non fa che definire meglio chimicamente il concetto di Obersteiner. Infatti egli dopo aver visto che il pigmento giallo si colora in rosso brillante col Sudan ne deduce che deve considerarsi tra i lipocromi.

Marinesco[4]) in parecchi lavori studia anch' egli la disposizione ed i caratteri del pigmento. In una sua prima nota, pubblicata nel 1898, riguardante le fini alterazioni della cellula nervosa nelle poliomieliti cro-

---

[1]) Obersteiner, Anleitung beim Studium des Baues der nervösen Centralorgane. Wien 1888. — Arbeiten a. d. Neurol. Inst. a. d. Wien. Univ. 1903 und 1904.

[2]) Pilcz, Citato da Obersteiner.

[3]) Rosin, Deutsch. Med. Wochenschr. 1895. — (Rosin und Fenyvesy) Virchows Archiv. Bd. CLXII.

[4]) Marinesco, Centralbl. für Nervenheilk. u. Psychiatrie. 1898. — Zeitschr. für allg. Phys. 1903. — Revue de Psychiatrie et de Psycol. exp. 1904.

niche, insiste sull' accumulo del pigmento nelle cellule atrofiche: per quanto riguarda la natura di questa sostanza egli crede che »probablement elles présentent un rapport avec la lécithine au point de vue de leur constitution«. In un successivo lavoro pubblicato l'anno appresso lo stesso autore studia il modo di comportarsi del pigmento giallo verso alcuni colori di anilina.

Finalmente in un suo lavoro recente studia la maniera di comportarsi del pigmento, eseguendo numerose ricerche nell' uomo ed in alcuni mammiferi di età differenti.

Da queste ricerche risulta che il pigmento giallo si rende particolarmente evidente col Sudan III, assumendo una tinta rosso-aranciata: si trova in moltissime cellule nervose, in età differenti ed anche, contrariamente a quanto aveva ammesso Rosin, in alcuni mammiferi. Per quanto riguarda la natura del pigmento non si pronunzia recisamente; pare che tenda a considerarlo come una sostanza di natura grassa, ma non crede di considerarlo come un lipocromo, perchè non presenta le reazioni caratteristiche di quest' ultime sostanze.

Rothmann[1]) considera al pari di Rosin il pigmento giallo come un lipocromo, ma contrariamente a quanto aveva ammesso quest' ultimo ne ammette la presenza anche nei mammiferi (cavallo-scimmia), cosa che del resto aveva notato anche prima Dexler[2]).

Mühlmann[3]) conferma i risultati di Rothmann e crede che il pigmento debba considerarsi come una trasformazione grassosa del citoplasma della cellula nervosa.

Robertson[4]) descrive granuli di pigmento oltre che nelle cellule nervose anche in quelle della nevroglia e nella parete dei capillari.

Olmer[5]) conferma in gran parte le proprietà microchimiche del pigmento, già ammesse precedentemente, e conchiude che il pigmento giallo rappresenta una sostanza grassa colorata e che perciò il termine di lipocromo è perfettamente giustificato.

Sehrt[6]), seguendo una precedente opinione di Lubarsch non crede che il pigmento della cellula nervosa e quello che si riscontra in altre cellule, ad eccezione della luteina dell'ovajo, possa considerarsi come un lipocromo, perchè non presenta la reazioni caratteristiche di questo dopo trattamento con HNO_3 o soluzione jodo-jodurata. Questo autore pensa

---

[1]) Rothmann, Deutsch. Med. Wochenschr. 1901.

[2]) Dexler, Citato da Marinesco.

[3]) Mühlmann, Arch. f. mikr. Anat. 1901.

[4]) Robertson, A., Text-Book of Path. in relation to Mental Diseases. 1900.

[5]) Olmer, Recherches sur les granulations de la cellule nerveuse. Lyon 1901.

[6]) Sehrt, Virchows Archiv. 1904.

invece che si tratti di un pigmento in combinazione chimica o fisica con una sostanza grassa.

Legendre[1]) nelle cellule nervose dell' *Helix* nota la presenza di granulazioni colorabili col Sudan e riducenti l'O_sO_4: in un suo ultimo lavoro parla anch' egli della presenza di lipocromo.

Accenno anche ai lavori di Kopsch[2]), Sjövall[3]) ed altri i quali descrivono nella cellula nervosa un reticolo che si rende evidente dopo un particolare trattamento con O_sO_4.

Wittmak[4]), servendosi di uno speciale procedimento già ricordato a proposito della tecnica, descrive nelle cellule nervose dei gangli dell' orecchio interno delle formazioni speciali che interpetra come costituite di mielina.

Finalmente recentissimamente sono comparse nuove ricerche e cioè quelle di Nageotte[5]), di C. Ciaccio[6]) e di Alagna[7]).

Nageotte descrive specialmente intorno ai vasi ed in rapporto coi prolungamenti della nevroglia delle granulazioni, che hanno molta somiglianza coi neurosomi di Held; l'autore afferma che tali granuli si lasciano colorare dal Sudan e dalla fuxina acida e conchiude così per la loro natura lipoide.

Contemporaneamente io in una nota riassuntiva sui lipoidi cellulari descrivo: 1. granuli lipoidi; 2. pigmento contenente una sostanza lipoide; 3. formazioni lipo-proteiche. Accenno inoltre »che nella sostanza grigia fuori delle cellule si osservano granuli della 1. e 3. categoria«

Alagna, applicando i miei metodi alle cellule gangliari dell' orecchio interno descrive nel protoplasma granuli e goccioline lipoidi: inoltre è riuscito a mettere in evidenza in gattini di pochi giorni un orlo lipoide alla periferia della cellula, il quale si continuerebbe colla guaina mielinica.

Ricerche personali.

Debbo premettere che il migliore materiale, per simili ricerche, come al solito, ci viene fornito dagli anfibii:

Esaminando una sezione di ganglio spinale di *Bufo vulgaris*, trattata col mio metodo 1. notiamo anzitutto che le cellule della capsula con-

---

[1]) Legendre, C. R. de la Soc. de Biol. 1905—1908.

[2]) Kopsch, Sitzber. k. Akad. Wiss. Berlin. 1902.

[3]) Sjövall, Anat. Hefte. 1906.

[4]) Wittmak, Zeitsch. f. Ohrenheilk. 1906.

[5]) Nageotte, C. R. de la Soc. de Biol. 1909.

[6]) C. Ciaccio, Anat. Anzeiger. 1909.

[7]) Alagna, Zeitschr. f. Ohrenheilk. 1909. — Arch. di Anat. pat. e scienze affini. 1909.

tengono nel loro protoplasma quantità variabili di lipoidi e variamente distribuiti. In condizioni normali si nota per lo più una grossa vescicola, il cui contorno è colorato in una bella tinta rosso-aranciata, mentre il centro si presenta di colorito rosa od orange debole. Nella cellula gangliare poi le formazioni lipoidi si trovano distribuite nel protoplasma senza una norma fissa e regolare, sia per quanto riguarda la loro grandezza, sià per il numero, sia per la disposizione. In generale troviamo granulazioni di grandezza variabile da frazioni di μ fino a vescicole del diametro di 5 a 7 μ. Le granulazioni piccole si presentano uniformemente tinte in rosso-aranciato, mentre le granulazioni, che vanno da 2 μ in sopra, possono presentare o la stessa costituzione oppure un centro colorato meno intensamente della periferia. Costantemente poi il protoplasma presenta una tinta uniforme rosa più o meno intensa in maniera da sembrare come imbibito di lipoide: però ad un esame attento con un buon obbiettivo ad immersione e con una buona illuminazione ciò che dà l'apparenza di una sostanza lipoide omogenea sembra spesso essere costituito di numerosi e finissimi granuli. Quest' ultima particolarità, che non si osserva su preparati fissati nella miscela di Carnoy e colorati col Sudan III, pare che non sia esclusiva della cellula nervosa, ma comune alla maggiore parte degli elementi cellulari di tessuti differenti come già abbiamo visto. Se si esaminano gli stessi elementi col 2. e 3. metodo osserviamo prima della colorazione col Sudan III dei granuli e delle goccioline di colorito brunastro, mentre le gocciole più grandi hanno una tinta nera; colorando queste sezioni col Sudan III vediamo che le prime formazioni prendono una tinta rosa o rosso-bruna, mentre le ultime possono presentare solo un sottile alone periferico di colorito rosa. Istituendo dei confronti tra il primo ed il secondo metodo pare che le granulazioni, che presentano una tinta uniforme col primo metodo, col secondo metodo riducono poco l'O_sO_4 e si lasciano quindi colorare dal Sudan III: mentre le grosse vescicole, che col primo metodo presentano solo la periferia colorata oppure questa colorata più intensamente del centro, col secondo metodo appunto assumono una tinta nera. Sicchè, tenendo conto di quanto ho esposto a proposito della tecnica, si può conchiudere che negli elementi suddetti si trovino dei lipoidi puri o associati ad altre sostanze grasse. Se si eccita in una maniera qualsiasi la funzionalità degli elementi nervosi colla faradizzazione dello sciatico per circa un' ora oppure iniettando dosi minime di arsenico o di stricnina allora notiamo le modificazioni seguenti:

Anzitutto nelle cellule della capsula si notano numerosi granuli e goccioline lipoidi al posto della grossa vescicola: nel protoplasma della cellula gangliare abbondano le granulazioni uniformemente tinte dal Sudan,

mentre sono scarse le vescicole in cui la periferia è più colorata del centro. Confrontando delle sezioni trattate col 1. metodo con quelle trattate col 2. e 3., vediamo che mentre diminuiscono i grassi riducenti l'O_sO_4 aumentano i lipoidi fissati dal cromo e colorabili col Sudan.

Per quanto riguarda i gangli spinali dei mammiferi generalmente non si ottengono risultati così evidenti come negli anfibii; è possibile però sempre mettere in evidenza dei lipoidi almeno negli animali da me studiati come: cane, topo, coniglio, cavia, gatto.

Osservando col mio 1. metodo un ganglio spinale di cagnolino appena nato si nota anzitutto che le cellule della capsula presentano un protoplasma finamente granuloso tinto uniformemente in arancio dal Sudan; data la forma allungata e sottile di tali cellule sembra come se la cellula gangliare fosse circondata da un collaretto lipoide. Spesso è possibile mettere in evidenza scarse granulazioni di colorito rosso-arancio e qualche piccola vescicola di cui solo il contorno o parte di esso rimane colorato.

Nel protoplasma della cellula gangliare i lipoidi sono più o meno abbondanti a seconda della varietà cellulare; da tale punto di vista si possono distinguere 2 specie di cellule: una varietà è rappresentata da elementi di piccola e media taglia con protoplasma compatto; un' altra varietà è rappresentata da elementi piuttosto grandi a protoplasma chiaro. Nei primi sopra un fondo rosa si notano numerose piccole granulazioni che misurano da frazioni di μ ad 1—2 μ circa; nei secondi le granulazioni lipoidi stanno sopra un fondo rosa-chiaro e sono molto meno numerosi che nei primi.

Una particolare menzione meritano le cellule del ganglio di Corti: alcune tra queste si comportano come quelle dei gangli spinali; altre in minor numero però oltre a sottili granulazioni lipoidi sparse nel protoplasma presentano in vicinanza del nucleo un agglomerato di granuli della grandezza di 2 μ circa, che nell' insieme costituiscono una semiluna; tali granulazioni sono tinte uniformemente ed intensamente in rosso-aranciato.

Negli animali adulti sono anche dimostrabili granuli e vescicole lipoidi di grandezza differente e pare che essi aumentino nelle infezioni leggiere, nell' intossicazioni da tossina difterica, da arsenico ecc. e nel digiuno.

* * *

Come per i gangli spinali così anche per il midollo spinale un eccellente materiale di studio ci viene fornito dagli anfibii.

In quasi tutte le cellule nervose del midollo spinale di *Bufo* e particolarmente nelle grandi cellule del corno anteriore i lipoidi si trovano distribuiti nel protoplasma sotto tre forme e cioè: 1. sotto forma diffusa; 2. sotto forma di granuli; 3. sotto forma di vescicole. Nel 1. caso si pos-

sono distinguere due tipi fondamentali di cellule: in uno il protoplasma chiaro è leggermente imbibito di lipoide, nell' altro il protoplasma compatto apparisce tinto uniformemente in arancio: queste ultime pare che corrispondano alle cosidette cellule cromofile di Flesch. Le granulazioni sono più o meno abbondanti, sono situate nella sostanza acromatica e si presentano tinti uniformemente dal Sudan in rosso-arancio; tali granulazioni sono puntiformi, rotonde, leggermente allungate o bacillari; la loro grandezza varia da frazioni di μ ad 1 a 2 μ circa. Le vescicole in genere si possono presentare o sparse indifferentemente nel protoplasma od aggruppate intorno al nucleo senza circondarlo completamente, formando così o una semiluna o una formazione triangolare a guisa di una mitria. Tali vescicole sono di forma rotonda, ovale o semilunare; la loro grandezza varia dai 2 a 5 μ; per quanto riguarda la loro costituzione in esse bisogna distinguere una periferia ed un centro: la periferia si presenta più o meno spessa e spicca per il suo colorito rosso-arancio, mentre il centro o rimane incolore o prende sotto l'azione del Sudan una tinta rosa od orange pallido.

Nelle sezioni trattate col mio 2. metodo o con quello di Marchi solo le vescicole più grandi sono colorate in nero, mentre le più piccole e le granulazioni prendono una tinta brunastra e si lasciano in tal caso colorare dal Sudan.

Nelle infezioni e nelle intossicazioni moderate pare che le vescicole diminuiscano mentre aumentano, ed in qualche caso straordinariamente, le granulazioni.

Nei mammiferi da me studiati, l'uomo incluso, troviamo egualmente rappresentati i lipoidi cogli stessi tipi sopra descritti, e la differenza che si nota tra essi e gli anfibii consiste nella minore quantità. Risultati simili si hanno per gli altri centri nervosi come il bulbo, il cervelletto ed il cervello e sui quali non insisto per non cadere in inutili ripetizioni.

Un fatto degno di nota è il modo di comportarsi dei lipoidi in quegli animali appena nati in cui il sistema nervoso è ancora in via di sviluppo come ad es. il cane: Infatti nei cagnolini appena nati le cellule nervose specialmente della corteccia cerebrale e cerebellare presentano in gran parte caratteri embrionali. In questi casi troviamo rappresentati i lipoidi solo nelle cellule che hanno raggiunto uno sviluppo sufficiente: sicchè mentre questi elementi abbondano nei gangli spinali, diminuiscono nel midollo e nel bulbo. sono scarse nel cervelletto e nella corteccia cerebrale. La costanza con la quale ho notato questo fatto m' induce a pensare che i lipoidi siano strettamento legati alla funzione della cellula nervosa.

* * *

Oltre alle cellule nervose anche le cellule della nevroglia, le cellule ependimali e le cellule dell' avventizia dei vasi possono presentare lipoidi sia sotto forma diffusa, sia sotto forma di fini granuli, che aumentano, spesso notevolmente, nelle infezioni ed intossicazioni.

Intanto desidero richiamare l'attenzione su due fatti importanti rilevabili col mio procedimento di tecnica:

Osservando la sostanza grigia dei centri, situata tra le cellule nervose si vede che essa sotto l'azione del Sudan III prende una tinta orange diffusa come se un lipoide l'imbibisse uniformemente: a forti ingrandimenti si notano sparsi dei granuli più o meno grandi colorabili col Sudan in arancio o rosso-aranciato. Specialmente in maniera caratteristica questo fatto si verifica nello strato dei granuli del cervelletto: in tale località si notano degli ammassi finamente granulosi di colorito orange con granuli bene individualizzati di colorito rosso-aranciato. Questi in gran parte corrispondono alle terminazioni delle fibre muscose.

Un altro fatto degno di nota è il modo di comportarsi della guaina mielinica di alcune fibre a livello specialmente delle cellule motrici del midollo, delle cellule di Purkinje del cervelletto e delle grandi cellule piramidali della corteccia cerebrale.

Negli anfibii in questo caso il midollo spinale ci fornisce delle figure quasi schematiche: osservando a piccolo ingrandimento un midollo spinale di *Rana* e di *Bufo* si osserva con mirabile chiarezza la decussazione delle fibre del fascio piramidale diretto a livello della commessura anteriore e si vede che le fibre mieliniche dopo la decussazione si terminano, conservando la guaina mielinica, alla periferia delle grandi cellule motrici.

Con altrettanta chiarezza si osservano fatti simili nel cervelletto specialmente del gatto: Intorno alle cellule di Purkinje si notano numerose fibre piuttosto sottili, dello spessore di circa 2 μ, le quali pare si terminano in corrispondenza della periferia di tale cellule.

Lo stesso, sebbene meno chiaramente si osserva per le cellule piramidali della corteccia cerebrale.

* * *

Ed ora vediamo che cosa rappresenta il pigmento giallo: Esso è stato, come abbiamo visto oggetto di numerose ricerche ed abbiamo visto inoltre che quasi unanimamente gli autori lo considerano come una sostanza grassa al punto che essi adoperano nei loro lavori indifferentemente le parole: pigmento grasso, pigmento simil-grasso, lipocromo e grasso come sinonimi. Io non insisto sulla disposizione ed altri caratteri del pigmento giallo, perchè trattati sufficientemente dagli autori che mi

hanno preceduto e specialmente da Obersteiner e da Marinesco: riguardo alla sua natura nulla ho da aggiungere a quanto ho detto riguardo al pigmento che si trova nelle cellule adipose, surrenali ecc.

* * *

In conclusione dunque nelle cellule nervose si riscontrano in maggiore o minore quantità, a seconda degli animali ed a seconda dello stato funzionale, delle sostanze lipoidi. Inoltre dalle mie ricerche e da quelle di Nageotte, alle quali ho già accennato, risulta che alcuni granuli oltre a colorarsi col Sudan si colorano anche con la fuxina acida. Già da parecchio tempo furono descritte nella cellula nervosa delle granulazioni colorabili e sulle quali hanno specialmente insistito: Levi[1]), Held[2]), Olmer[3]), Motta-Coco[4]), Marinesco[5]). Ora, alcune di queste granulazioni si colorano molto bene tanto col Sudan quanto colla fuxina acida e con ematossilina ferrica, altre invece prendono solo una tinta rosea col Sudan. Inoltre pare che gran parte di tali granuli si possano mettere in evidenza sulle sezioni di pezzi fissati in liquidi osmici o cromici: probabilmente si tratterà di lipoidi complessi, oppure associati ad una sostanza proteica.

Cap. 5. Rene.

Le ricerche riguardanti i grassi ed i lipoidi renali sono in verità scarse ed appartengono ad un epoca piuttosto recente.

Uno dei primi a parlare di grasso nelle cellule renali è il Sauer[6]): successivamente in un classico lavoro dei fratelli Monti[7]) sul rene della marmotta sveglia ed in letargo la presenza di grasso nell' epitelio dei tuboli contorti è stata messa in dubbio. Questi autori hanno però notato in queste cellule dopo fissazione in liquido di Flemming che »alcuni granuli appaiono neri, come se fossero goccioline adipose, colorate dall' acido osmico, ma in seguito aggiungono: »Il primo dubbio che ne nacque fu quello che i granuli neri, nei pezzi fissati col liquido di Flemming, fossero goccioline adipose, ma poichè detti granuli non scomparvero nelle sezioni tenute fino a 15 giorni in olio di bergamotto od in xilolo, e poichè uguali

[1]) Levi, Rivista di pat. nerv. e mentale. 1896.
[2]) Held, Arch. für Anat. und Phys. 1897.
[3]) Olmer, Recherches sur les granulations de la cellule nerveuse. Lyon 1901.
[4]) Motta-Coco, Anat. Anzeiger. 1905.
[5]) Marinesco, Zeitschr. für allg. Phys. 1903.
[6]) Sauer, Arch. für mikr. Anat. 1895.
[7]) A. e R. Monti, Verhandl. d. Anat. Ges. Pavia 1900.

immagini ottenemmo anche in pezzi fissati colla miscela di Carnoy, abbiamo dovuto convincerci che non si tratta di grasso«.

Régaud e Policard[1]) hanno applicato al rene di parecchi vertebrati il solito metodo di Weigert-Régaud all' ematossilina cuprica ed hanno riscontrato nelle cellule dei tubuli contorti di tutti gli animali da loro studiati granulazioni e vescicole variabili per colorito dal bruno-chiaro al nero intenso. In quanto alla natura di tali formazioni essi così si esprimono: »Nous n'avons, pour le moment, aucun renseignement sur la nature chimique de la substance colorable, ni sur les relations de cette substance avec les matériaux de l'urine«.

Gurwitsch[2]) descrive nelle cellule renali degli anfibii dei vacuoli, il cui contorno si colora in nero sotto l'influenza dell' acido osmico. L'importanza attribuita da questo autore a tali formazioni è notevole, ammettendo che il vacuolo colla sua membrana lipoide funzioni come un condensatore delle sostanze, che debbono essere escrete.

In epoca recentissima i lavori di Mulon[3]) ed i miei hanno portato un nuovo contributo a tale questione. Mulon ammette principalmente la presenza di una sostanza grassa d'imbibizione nei bastoncini: questo autore afferma di avere ottenuto risultati evidenti, trattando delle sezioni di rene ottenute per congelazione col bleu di chinoleina; in tal guisa egli avrebbe osservato i bastoncini di Heidenhain colorati in bleu. Quasi contemporaneamente io[4]) in una nota sui lipoidi cellulari son venuto ai seguenti risultati per quanto concerne specialmente il rene degli anfibii: Si notano granuli e vescicole lipoidi anche nei glomeruli; nei tubuli secernenti i lipoidi sono a preferenza localizzati nella parte distale della cellula, in cui i bastoncini sono impregnati da una sostanza lipoide non solo, ma tra e su di essi si notano dei fini granuli lipoidi; in casi di diuresi abbondante i lipoidi aumentano notevolmente.

Ricordo anche le recenti ricerche di Brugnatelli[5]), il quale ha riscontrato del grasso in quantità rilevante nella sostanza midollare dei cani, specialmente alimentati con grassi.

Oltre che dalle ricerche citologiche anche da ricerche chimiche apprendiamo la presenza di lipoidi nel rene:

Recentemente infatti Dunham[6]) ha trovato nel rene di alcuni ani-

---

[1]) Régaud et Policard, C. R. de la Soc. de Biologie. 1901.

[2]) Gurwitsch, Pflügers Archiv 1902. — Morph. und Biol. d. Zellen. Jena 1904.

[3]) Mulon, C. R. de la Soc. de Biol. 1909.

[4]) C. Ciaccio, Anat. Anzeiger. 1909.

[5]) Brugnatelli, Atti della R. Acc. Med. Chir. di Pavia. 1909.

[6]) Dunham, V. Bioch. Centralblatt. 1904.

mali ed anche dell' uomo notevoli quantità di lecitina. L. Zoia[1]) egualmente in una nota riassuntiva sulla citologia del rene così si esprime: »Ricerche fatte col Dr. Moruzzi, non ancora pubblicate, mi hanno dimostrato che, specialmente coi liquidi fissatori contenenti i solventi delle sostanze grasse passano in soluzione molti corpi lipoidi, tra i quali vi sono corpi che coll' acqua danno goccie mieliniche e abbiamo riconosciuto la colesterina«.

Ricerche personali.

I migliori risultati in questo genere di ricerche si ottengono negli anfibii, tra i quali io mi son servito del genere *Rana* e *Bufo*.

Incomincio col far notare che gli autori non fanno menzione, almeno per quanto io mi sappia, di sostanze grasse nei glomeruli: Le mie ricerche istituite su parecchi individui mi hanno invece costantemente e sicuramente dimostrato la presenza di lipoidi nel protoplasma dell' endotelio dei vasi glomerulari. Tali sostanze si trovano sotto forma di granuli finissimi, sparsi e visibili solo con forti ingrandimenti; in casi di diuresi provocata coll' iniezione endoperitoneale di soluzioni variamente concentrate di NaCl i granuli lipoidi diventano più grossi e più numerosi.

Per quanto riguarda le cellule dei tubuli secernenti notiamo quanto segue:

Come ho accennato a proposito della letteratura le ricerche di Mulon e le mie portano alla conclusione dell' esistenza di una sostanza grassa che impregna le formazioni bastonciniformi, che si riscontrano nella porzione distale della cellula: Infatti queste dopo colorazione con Sudan-Emateina, effettuata sia su sezioni ottenute per congelamento o dopo inclusione in gelatina, sia su sezioni allestite dopo trattamento col mio metodo I., presentano una tinta rosea od orange più o meno intensa; tale tinta invece manca se coloriamo col Sudan le sezioni di pezzi fissati col liquido di Sauer. Tale particolarità si rende maggiormente evidente se dopo la colorazione col Sudan si faccia seguire come colorazione di contrasto quella col Wasserblau: in tal guisa sopra un fondo azzurro-cielo spiccano in arancio le formazioni bastonciniformi.

Inoltre tanto tra i bastoncini quanto sopra di questi si notano dei granuli di 1 μ circa, i quali in alcuni casi si presentano allineati in serie: quanto più poi ci troviamo nella porzione distale riscontriamo delle vescicole di circa 2 μ, in cui un orlo più o meno spesso è colorato in rosso-arancio, mentre il centro è incoloro o roseo; scarsi granuli si riscontrano anche nella porzione prossimale della cellula.

[1]) Zoia, Autori assunti di Medicina Interna. 1907.

Delle immagini molto belle e dimostrative si ottengono eccitando la funzione renale sia coll' iniezione di sostanze saline, ipertoniche come ad es. una soluzione di NaCl al 5%.

In tali condizioni osserviamo con molta chiarezza le vicende del metabolismo delle sostanze lipoidi coll' esame non solo di uno stesso rene, ma anche di uno stesso tubulo e ciò per il fatto che i diversi tubuli ed anche, sebbene più raramente, le cellule di uno stesso tubulo si trovano in diversa fase di secrezione: In alcune cellule assistiamo alla individualizzazione e frammentazione dei bastoncini, i quali si presentano sotto forma di formazioni bacillari più o meno corti, sparsi nella porzione distale della cellula e piuttosto bene colorati dal Sudan. In altre cellule i bastoncini vanno scomparendo ed in tal caso la porzione distale è occupata da numerose vescicole a contorno intensamente colorato in rosso-aranciato: queste sono varie per grandezza, da 1 a 4 μ di diametro e varie anche per lo spessore dell' orlo lipoide periferico; tra queste vescicole si notano dei fini granuli, intensamente colorati in rosso-arancio.

Nella porzione prossimale della cellula in cui abbondano i granuli di secrezione, che il Wasserblau colora in azzurro più o meno carico, sono rare le vescicole e si notano invece solo granuli lipoidi. A misura che il processo secretorio si avanza, tanto nella porzione distale quanto nella prossimale le formazioni lipoidi vanno sempre più diminuendo: in tal caso, sqecie quando la diuresi è esagerata, all' aumento notevole dei granuli di secrezione si aggiunge un mutamento nella proprietà istochimiche di questi. Infatti mentre essi in preparati allestiti con Sudan-Wasserblau, sogliono ordinariamente assumere questa ultima tinta, nelle condizioni testè accennate assumono una tinta orange più o meno intensa. Finalmente il lume di alcuni tubuli è riempito da una sostanza di aspetto colloide e colorabile anch' essa col Sudan in orange o rosa.

Bisogna notare che in questi ultimi casi si tratta di un lipoide che impregna una sostanza proteica, poichè tanto le grosse granulazioni quanto la sostanza che si trova nel lume di alcuni tubuli sono anche ben visibili in sezioni di pezzi fissati colla miscela di Sauer, con la differenza però che in tal caso la colorazione col Sudan riesce negativa. Per quanto riguarda i grassi ed i lipoidi renali nei mammiferi, ho istituito delle ricerche sul cane, gatto, coniglio, cavia, topo e sull' uomo: In tale materiale di studio il metabolismo istochimico dei lipoidi renali non è cosi chiaro come negli anfibi , ma nelle linee generali riscontriamo gli stessi fatti, sebbene con minore intensità. Così ad es. nel rene del cane o del coniglio si riscontrano scarso granuli lipoidi nei glomeruli; i bastoncini di Heidenhain dei tubuli contorti presentano anche proprietà simili a quelli degli anfibii;

infine si riscontrano spesso granuli lipoidi anche nell' epitelio dei tubi collettori.

Ho istituito anche parecchi ricerche sul rene tanto degli anfibii che dei mammiferi (cane-coniglio) in alcune infezioni ed intossicazioni. Senza dilungarmi in particolari accennerò solo alle conclusioni fondamentali.

1. Nelle infezioni ed intossicazioni leggiere riscontriamo un aumento manifesto dei lipoidi tanto nei glomeruli quanto nei tubuli contorti e nelle anse ascendenti di Henle. In queste condizioni non sempre possiamo parlare di degenerazione lipoide, perchè le cellule mostrano i caratteri di un aumentata funzionalità come: aumento delle granulazioni fuxinofile e basofile, dei corpi purinici, senza mostrare segni degenerativi apprezzabili del nucleo o del protoplasma.

2. Nelle infezioni ed intossicazioni gravi invece a misura che i comuni mezzi di indagine ci dimostrano alterazioni più o meno gravi del nucleo e di altre strutture cellulari si riscontra spesso un aumento notevole di granuli e vescicole lipoidi. In questi casi solo, credo, sia lecito parlare di una degenerazione lipoide (metamorfosi lecitinica, Ciaccio).

Un fatto degno di nota sul quale voglio accennare brevemente è la presenza di elementi connettivali interstiziali contenenti lipoidi. La presenza di tali elementi è chiaramente dimostrabile nel rene degli anfibii: in questi animali si riscontrano degli elementi connettivali, applicati sulla membrana basale dei tubuli renali, e contenenti nel loro protoplasma delle grosse vescicole con contorno di natura lipoide e scarsi granuli piuttosto piccoli della stessa natura. Il modo di comportarsi dei lipoidi in queste cellule pare che sia in relazione colla funzionalità delle cellule renali; queste sostanze infatti aumentano in un primo tempo dell' attività secernente e, quando questa ha raggiunto l'acme, diminuiscono fino a scomparire.

In base a tali fatti propenderei a credere che i lipoidi necessarii al metabolismo delle cellula renale siano somministrati da questi elementi interstiziali, che, almeno provisoriamente, potrebbero considerarsi nella categoria delle cellule lecitiniche (Ciaccio).

Nei mammiferi, almeno in condizioni normali, non si riscontrano elementi dotati di queste proprietà, ma quando la funzionalità della cellula renale è esaltata allora essi si possono riscontrare.

* * *

In conclusione dunque da quanto ho esposto risultano i fatti seguenti:

1. Si riscontrano lipoidi nell' apparato glomerulare e nei tubuli secernenti.

2. Nei tubuli le sostanze lipoidi si riscontrano:
   a) individualizzate sotto forma di granuli o di vescicole;
   b) impregnando oppure rivestendo i bastoncini di HEIDENHAIN ed alcune granulazioni colorabili;
   c) specialmente in casi di diuresi, sotto forma di vacuoli lipoidi, in cui il contenuto è probabilmente una sostanza liquida.

A questo punto credo oppurtuno osservare che le granulazioni descritte dai fratelli MONTI, le quali reagiscono coll' osmio e si colorano colle ematossilina ferrica, possano interpetrarsi come granulazioni proteiche avvolte od impregnate da una sostanza lipoide: in tal caso si comprende facilmente come esse non possano scomparire anche dopo un lungo soggiorno in xilolo od olio di bergamotto e d'altra parte come esse siano visibili in sezioni di pezzi fissati in liquido di SAUER.

Cap. 6. Ipofisi.

La questione riguardante la presenza di grasso e di lipoidi nell' ipofisi non si può considerare come definitiva.

Parecchi autori antichi e recenti, che si sono occupati della fina struttura di questo organo, fanno menzione della presenza di grasso nelle cellule.

Tra le ricerche non recenti cito quelle di ROGOVITSCH[1]), LOTHRINGER[2]), STIEDA[3]), ERDHEIM[4]), PISENTI e VIOLA[5]), BENDA[6]) ecc. Di questi autori alcuni, pur ammettendo che nelle cellule ipofisarie possano riscontrarsi delle sostanze grasse, credono però che queste siano da considerarsi come l'espressione di un fatto patologico o di un' alterazione cadaverica.

La questione è stata ripresa recentemente da LAUNOIS[7]), LOEPER[8]), ESMONET[9]), i quali credono che la presenza di grasso nelle cellule ipofisarie debba considerarsi come un fenomeno normale e quindi come l'espressione di un prodotto del metabolismo cellulare allo stesso modo di ciò che si verifica per altri organi (tegato, surrenali ecc.). Secondo LOEPER il grasso ipofisario si può riscontrare o sotto forma di granuli o sotto

---

1) ROGOWITSCH, Zieglers Beiträge. 1888.
2) LOTHRINGER, Arch. f. mikr. Anat. 1886.
3) STIEDA, Zieglers Beiträge. 1889.
4) ERDHEIM, Ibidem. 1903.
5) PISENTI e VIOLA, Lavori dell' Ist. di Anat. pat. dell' Univ. di Perugia. 1890.
6) BENDA, Berl. klin. Wochenschr. 1900.
7) LAUNOIS, La glande hypophysaire de l'homme. Paris 1904.
8) LOEPER Arch. de Méd. exp. et d. Anat. path. 1904.
9) LAUNOIS, LOEPER et ESMONET, C. R. de la Soc. de Biol. 1904.

forma di gocciole aggruppate tra loro in modo da dare l'immagine di un corpo a guisa di morula — corps muriformes.

Launois afferma che si può riscontrare del grasso non solo nelle cellule, ma anche nei capillari sanguigni e linfatici; per quanto riguarda i corpi moriformi pensa che essi possano essere dovuti ad artificii di tecnica.

Queste conclusioni degli autori francesi sono combattute però da Pirone[1]) e da Guerrini[2]): questo ultimo autore infatti esclude »che la cellula ipofisaria possa contenere normalmente granuli di grasso entro il protoplasma e tanto meno che questi granuli. esponente di una funzione normale, elaborati dal protoplasma, passino poi, come il Launois vorrebbe, così come tali, o in accumuli e gocciole entro i vasi sanguigni e linfatici. La colorazione nera che assume sovente, per azione dell' acido osmico, la cosidetta sostanza colloide, spiega che cosa probabilmente fu interpetrato in tali casi per grasso«.

Recentissimamente poi per mezzo di nuove ricerche si è ritornato su questo argomento per opera di Thaon[3]), Ciaccio[4]), Ciulla[5]):

Thaon descrive il grasso in condizioni normali e patologiche ed ammette che esso più riscontrarsi nelle cellule sia sotto forma di granuli, sia sotto forma di »corps muriformes, qui apparaissent ici comme des vésicules claires, petites, agminées en rosace«. Questo autore dopo avere stabilito una certa analogia di tali formazione coi grassi labili di Bernard e Bigart conclude che: »En somme, la nature même des graisses de l'hypophyse est mal connue encore. Ce que nous en avons dit semble prouver qu'elles sont de composition diverse. Elles paraissent assez pauvres en oléine et plus ou moins combinées à une molécule albuminoide (lécithine)«.

Riguardo alla localizzazione non si ha, secondo Thaon, nulla di speciale, poichè si può trovare del grasso in ogni punto della glandola ed in ogni varietà cellulare non solo, ma anche negli ammassi di sostanza colloide, nei capillari sanguigni e nel corpo dei leucociti.

Io recentissimamente ho accennato alla presenza di lipoidi nell' ipofisi anche in condizioni normali. Ciulla, servendosi dei miei metodi per i lipoidi descrive e riproduce nelle figure, un notevole aumento di queste sostanze durante la gestazione.

---

1) Pirone, Archivio di Fisiologia. 1905.

2) G. Guerrini, Ibidem. 1905.

3) Thaon, L'hypophyse. Paris 1907.

4) C. Ciaccio, Cent. f. allg. Path. u. Path. Anat. 1909.

5) Ciulla, Gli organi a secrezione interna in gravidanza. Palermo 1909.

Ricerche personali.

Come materiale di studio mi son servito del cane, coniglio, gatto ed uomo, ottenendo i migliori risultati nel primo di questi animali.

Per stabilire con chiarezza la distribuzione dei lipoidi nell' ipofisi sarebbe necessario anzitutto di ben caratterizzare i diversi tipi cellulari; non bisogna nascondere però che su questo argomento regna una grande confusione sia per quanto riguarda la nomenclatura, sia per quanto riguarda l'autonomia di diverse specie cellulari in base ai caratteri delle granulazioni colorabili del protoplasma. Infatti, volendo solo far menzione delle ricerche recenti, vediamo che mentre gli autori francesi descrivono diversi tipi cellulari (Launois e Mulon, Thaon), Guerrini e Pirone al contrario ammettono una sola varietà cellulare, il cui aspetto e configurazione diversi sono da imputarsi a fasi di attività secretoria differenti. Non è certo qui il luogo di discutere su tale argomento, ma dovendo in ogni modo adottare un certo criterio per la nomenclatura cellulare, mi servirò di termini generici, i quali non pregiudicano affatto, sull' essenza e sulla natura dei processi di secrezione delle cellule ipofisarie. Da questo punto di vista mi permetto di differenziare 4 tipi cellulari corrispondenti ad altrettanti stadii funzionali differenti e cioè:

1. Cellule con scarsi granuli colorabili.
2. Cellule congranuli piuttosto numerosi.
3. Cellule riempite totalmente o quasi di granuli.
4. Cellule in cui i granuli sono quasi scomparsi, in modo da rassomigliare per ciò al primo tipo, colla differenza però che il nucleo in questo ultimo tipo è quasi picnotico, mentre nel primo è grosso ed ambliocromatico con nucleolo ben manifesto.

Per quanto riguarda i lipoidi, prendendo come tipo il cane, in condizioni normali notiamo quanto segue:

Le cellule del 1° tipo dopo trattamento col mio metodo 1. presentano un protoplasma colorato in rosa ed in orange debole e sparsi in esso si riscontrano dei granuli lipoidi puntiformi e qualche piccola gocciolina, in cui l'orlo periferico è colorato più intensamente del centro.

Nelle cellule del 2. tipo i granuli lipoidi sono più numerosi che in quelle del tipo precendente e più grossi.

Nelle cellule del 3. tipo si nota solo e non sempre qualche granulo.

Finalmente nelle cellule del 4. tipo il protoplasma assume una tinta orange più intensa che nelle cellule del 1. tipo e in esse si scorge qualche granulo e qualche vescicola della grandezza di 2 μ circa.

In preparati allestiti col metodo 2. e 3. i lipoidi assumono quasi

in totalità una tinta bruna prima della colorazione col Sudan e rosso-bruna dopo l'impiego di questa tinta.

In condizioni normali solo raramente ho potuto riscontrare formazioni lipoidi nei vasi; pare però che la sostanza colloide in alcuni casi assuma una tinta rosa od orange più o meno manifesta.

Egualmente in condizioni normali, almeno negli animali da me studiati, mai ho potuto riscontrare delle formazioni, che potessero ricordare i »corps muriformes« di Loeper e di Thaon. È però interessante il fatto, già da me ricordato in altre cellule, che alcune granulazioni si lasciano colorare tanto dal Sudan quanto dall' ematossilina ferrica o dal Wasserblau; in certi casi anzi dopo colorazione con Sudan-Ematossilina ferrica alcuni granuli assumono una tinta violacea come se le due tinte si sovrapponessero l'una all' altra.

Ho istituito anche delle ricerche in alcune condizioni sperimentali e patologiche, sulle quali riferirò brevemente; il materiale da me adoperato è rappresentato: a) da un cane inoculato per una settimana con 4 cm^3 al giorno di una soluzione di acido nucleinico Merk all' 1%, nel cavo peritoneale; b) di un coniglio inoculato con tossina difterica con una dose metà della minima mortale; c) di una gatta gravida; d) di un uomo morto per cirrosi epatica.

Nel cane a) si riscontra un aumento moderato nell' attività secretoria delle cellule ipofisarie e nelle stesso tempo un discreto aumento dei lipoidi, che su per giù può considerarsi come il doppio delle condizioni normali.

Nel coniglio b) è anche aumentata l'attività secretoria; i lipoidi sono abbondanti: quasi tutte le cellule contengono granuli finissimi piuttosto numerosi e grosse granulazioni lipoidi di 2 a 3 μ di diametro e qualche volta anche di più.

Nella gatta c) si ha un aumento discreto dei lipoidi come nel caso a).

Finalmente nell' uomo d) ho riscontrato un moderato aumento dei granuli di secrezione ed un aumento straordinario dei lipoidi cellulari; quasi tutte le cellule presentano numerosi granuli di varia grandezza, vescicole più o meno grosse e variamente conformate ed anche in qualche cellula vescicole aggruppate a guisa di morula.

* * *

In base alle mie ricerche dunque mi sento autorizzato a conchiudere che nelle cellule ipofisarie anche in condizioni normali ed in varii mammiferi si riscontrano sostanze lipoidi variamente conformate e distribuite, mentre i grassi comuni sono scarsamente rappresentati. Inoltre i lipoidi aumentano nei casi in cui con altri metodi si rileva una maggiore funzio-

nalità delle cellule ipofisarie: a tale riguardo credo che l'aumento dei lipoidi non debba sempre considerarsi come un fatto degenerativo, ma invece in alcuni casi come l'esponente dell' aumentato metabolismo citologico.

Cap. 7. Apparato tiro-paratiroideo.

A. Tiroide.

Le nostre conoscenze acquisite finora sulla presenza di sostanze grasse nelle cellule tiroidee sono molto incerte, frammentarie e scarse. Il Langendorff[1]) nelle sue classiche ricerche sulla fina struttura delle cellule tiroidee descrive in queste dei granuli, i quali non sono da confondersi cogli altri prodotti di secrezione e che dopo l'uso del tetrossido di osmio assumono una tinta nera. Müller[2]) descrive anche nelle cellule tiroidee dei granuli che dopo l'uso del liquido di Flemming assumono una tinta grigia o bruna; v. Ebner[3]) giunge a risultati simili per la tiroide umana, e così anche Erdheim[4]) in tiroidi umane sia normali che patologiche. Sata[5]) trova granuli simili in parecchi casi di gozzo non solo nelle cellule tiroidee, ma anche nelle cellule del connettivo interstiziale.

Recentissimamente Ciulla[6]) si è occupato di tale argomento per quanto riguarda la tiroide in gravidanza, descrivendo in alcune cellule tiroidee delle granulazioni grassose e concludendo: »Sulla natura di queste granuli non ho alcun dubbio; perchè essi oltre a reagire coll' acido osmico si tingono col Sudan e sono solubili nei solventi dei grassi«.

Ricerche biochimiche istituite da Iscovesco[7]) mostrano che nella tiroide sono contenuti diverse varietà di lipoidi, dei quali alcuni sono solubili in alcool, etere ed acetone, mentre altri sono insolubili in acetone; secondo questo autore di tali lipoidi alcuni sono agglutinanti, altri emolitici ed altri antiemolitici.

B. Paratiroidi.

Anche riguardo alle paratiroidi le nostre conoscenze sulle sostanze grasse sono incerte:

Alcuni autori, che si sono occupati della fina struttura delle paratiroidi, fanno menzione di una sostanza che si comporta come un grasso

---

[1]) Langendorff, Arch. f. Anat. und Phys. 1889.

[2]) Müller, Zieglers Beiträge. 1896.

[3]) v. Ebner, V. Kölliker, Handbuch d. Gewebelehre 1899.

[4]) Erdheim, Zieglers Beiträge. 1903.

[5]) Sata, Ibidem. 1901.

[6]) Ciulla, Gli organi a secrezione interna in gravidanza. Tesi. Palermo 1909.

[7]) Iscovesco, C. R. de la Soc. de Biol. de Paris. 1908.

rispetto all' osmio [Vassale e Generali[1])]. Altri pùr ammettendo la presenza di una sostanza grassa affermano che essa non sia costante e che sia l'esponente di un fatto degenerativo [Schreiber[2]), Luzzatto[3])].

Dobbiamo alle recenti ricerche di Pepere[4]) ed alle recentissime di Engel[5]) delle cognizioni importanti e decisive a tale riguardo.

Pepere si è servito per la dimostrazione del grasso oltre che dell' osmio, anche del Sudan, dello Scharlach e del fermento lipolitico e giunge alla conclusione che nelle cellule paratiroidi esiste senza dubbio una sostanza grassa.

Engel servendosi del liquido di Flemming e del Sudan riscontra nel cellule parotiroidee umane delle gocciole che assumono una tinta bruna col Flemming ed arancio col Sudan.

Ricerche personali.

Tiroide. Anche in condizioni normali si riscontrano nelle cellule tiroidee del cane, del coniglio e dell' uomo scarsi granuli lipoidi, finissimi, intensamente colorabili col Sudan: il protoplasma di alcune cellule si presenta uniformemente tinto in rosa od in orange; la stessa tinta assumono anche spesso alcuni granuli di secrezione nel gatto e nel coniglio.

Le cellule tiroidee che si trovano in una fase avanzata di secrezione e che presentano un nucleo ipercromatico sono costituite da un protoplasma che spicca per il suo colorito aranciato e nel quale si possono anche trovare granuli e gocciole intensamente colorati in rosso-arancio. Specialmente nella tiroide del cane e dell' uomo si possono riscontrare anche dei fini granuli pigmentati, i quali si lasciano colorare per lo più dal Sudan. I lipoidi in genere aumentano nelle infezioni ed intossicazioni, che danno luogo ad aumento di funzionalità della tiroide: in questi casi spesso s'incontrano nel lume degli otricoli delle cellule sfaldate uniformemente tinti in arancio. In altri otricoli la stessa sostanza colloide si lascia colorare dal Sudan e ciò forse per dissoluzione dei lipoidi delle cellule desquamate.

Paratiroidi. Si riscontrano lipoidi nelle paratiroidi del cane e del coniglio sia sotto forma di granuli sia sotto forma di gocciole. Non ho ricerche sufficienti riguardo al comportamento dei lipoidi in condizioni patologiche: solo per caso in un coniglio, affetto da una cisti di

---

1) Vassale e Generali, Citato da Ciulla.
2) Schreiber, Arch. f. mikr. Anat. 1898.
3) Luzzatto, Lo Sperimentale. 1900.
4) Pepere, Le glandule paratiroidee. Torino 1906.
5) Engel, Int. Monatschr. f. Anat. und Phys. 1909.

echinococco del tessuto sottocutaneo del collo, ho riscontrato una così grande quantità di lipoidi, che osservando una sezione trattata col mio 1. metodo a piccolo ingrandimento sembrava avere sott' occhio un frammento di tessuto cortico-surrenale.

Cap. 8. Tessuti emopoietici — Sangue.

Recentemente ed in parecchi lavori mi sono occupato del metabolismo citologico ed istochimico dei tessuti emopoietici in generale e di quello delle sostanze grasse in particolare: qui riferirò in succinto i risultati delle mie ricerche, rimandando per più minuti dettagli ai lavori citati a piè di pagina[1]).

1. Tessuto mieloide.

Lo schema generale del metabolismo lipoide del midollo osseo può essere così rappresentato: »esistono degli elementi nutritivi destinati a somministrare le sostanze lipoidi agli elementi cellulari che si originano nel midollo osseo come i leucociti, le emazie, i megacariociti«.

Un elemento nutritivo fondamentale è la cellula adiposa, che si riscontra nel midollo osseo di tutti i vertebrati ad eccezione dei pesci: tale elemento ha la struttura di una comune cellula adiposa, però in confronto di altre cellule analoghe, è molto sensibile a tutti gli stimoli che in generale sono causa di una iperfunzione del tessuto mieloide ed inoltre presenta in alcuni casi delle strutture speciali e caratteristiche, che in generale sono poco accentuate nelle oltre cellule adipose.

Quando è esagerata l'attività mieloide con qualsivoglia mezzo si assiste in generale a tutte quelle trasformazioni che ho già ricordato a proposito della cellula adiposa; in alcuni casi però si accumula nelle cellule adipose midollari una quantità notevole di un proteide; per questo ultimo fatto ho creduto di denominare tali elementi »cellule lipo-proteo-boliche«. Un altro elemento nutritivo sarebbe la cellula lecitinica, la quale può originare da una cellula adiposa oppure da altre cellule. Tale elemento in nulla differisce da quelli che ho già descritto al principio di questo lavoro e perciò non insisto per non cadere in inutili ripetizioni.

Pare che i lipoidi, elaborati da questi elementi nutritivi entrano almeno in parte nella costituzione degli elementi mieloidi: Così nei megacariociti si nota un lipoide di imbibizione in gran parte del protoplasma ad

---

[1]) C. Ciaccio, Congresso di Medicina Interna. Palermo 1907. — Congresso di Patologia. Palermo 1908. Folia haematologica 1909 Bd. VII und VIII. — Rivista di Microscopia e Chimica Clinica 1909. — Ibidem 1910.

eccezione di un orlo periferico e dei granuli lipoidi sparsi. Egualmente nelle cellule madri delle emazie e nei mielociti senza granulazioni si riscontra un lipoide d'imbibizione; nei mielociti granulosi invece pare che il lipoide avvolga le rispettive granulazioni, tanto che queste e in special modo le eosinofile col mio 1. metodo appariscono tinte in orange; ci troviamo così di fronte a granuli proteo-lipoidi, simili a quelli riscontrati in altre cellule.

Tessuto linfoide.

Mentre nel tessuto mieloide predominano i fenomeni anabolici in quello linfoide predominano i fenomeni catabolici.

Se eccitiamo in una maniera qualsiasi l'attività della milza o delle linfoglandole, mentre da una parte assistiamo alla formazione di elementi a tipo linfoide, d'altra parte assistiamo ad una vera e propria digestione di elementi invecchiati a tipo mieloide e provenienti dalle circolazione:

Il processo di digestione si può compiere tanto nel protoplasma dei macrofagi, e ciò è più frequente, quanto fuori di questi; tanto nell' uno quanto nell' altro caso noi vediamo che son messe in libertà delle sostanze lipoidi a spese delle emazie e dei leucociti fagocitati.

Riguardo al destino di queste sostanze lipoidi io ho ammesso che esse potessero essere adibite come materiali di nutrizione per la produzione di elementi linfoidi.

* * *

Timo.

Una speciale menzione merita il timo: riguardo alla distribuzione dei lipoidi in questo organo mentre riscontriamo dei fatti analoghi a quelli che si riscontrano nei tessuti emopoietici d'altra parte si notano dei fatti speciali. Così possiamo vedere elementi mieloidi coi caratteri sopra ricordati, alcune volte dei macrofagi contenenti lipoidi originati da un processo digestivo; inoltre si possono trovare in maggiore o minor numero, a seconda dello stato fisio-patologico del timo, delle cellule lecitiniche.

Particolare menzione poi meritano le cellule epiteliali ed i corpuscoli di Hassal: Le cellule epiteliali oltre a contenere un lipoide di imbibizione contengono granuli e vescicole lipoidi più o meno abbondanti; i corpuscoli di Hassal poi specie nel centro contengono elementi ricchi di vescicole e granuli lipoidi, che debbono considerarsi come l'esponente d'un fenomeno regressivo e ciò per il fatto che queste cellule presentano segni evidenti di degenerazione nucleare.

Cap. 9. Metabolismo lipoide in alcuni tessuti di riserva dei vegetali (semi-bulbi).

È di comune conoscenza che i semi dei vegetali oltre all' amido ed alle sostanze proteiche contengono dei grassi in maggiore o minòre quantità. Dalle ricerche di König[1]) risulta che nei semi gli idrati di carbonio e i grassi stanno in generale in rapporto inverso; da questo punto di vista l'autore distingue semi ad idrati di carbonio (Kohlehydratsamen) e dei semi grassi (Fettsamen): Così ad es. nei semi del *Pisum sativum* si trovano: 52,68 di idrati di carbonio e 1,89 di grasso; al contrario nell' *Amygdalus communis* si trova nei semi 7,84 di idrati di carbonio e 53,02 di grasso. Tra queste forme estreme però si possono annoverare dei semi, i quali contengono proporzioni non molto ineguali di idrati di carbonio e di grasso come ad es. nel *Linum usitatissimum*, *Brassica rapa*, *Papaver somniferum*, *Cannabis sativa*.

Similmente nei tuberi e nei bulbi si trovano accumulati idrati di carbonio e grassi; i primi sono in quantità molto più rilevanti dei secondi.

Oltre ai grassi comuni consistenti per lo più in eteri della glicerina ed in acidi grassi si riscontrano nei semi lipoidi fosforati ed anche colesterina e lipocromi.

Nei semi, particolarmente Schultze ed i suoi discepoli[2]), hanno istituito numerose ricerche riguardo al contenuto in lecitina: da tali ricerche risulta che per lo più il maggiore contenuto in lecitina si riscontra nei semi delle leguminose come in: *Lupinus luteus*, *Vicia sativa*, *Pisum sativum*, *Lens esculenta* ecc. Stoklasa[3]) ha fatto notare per mezzo di determinazioni quantitative accurate che il contenuto in lecitina dei semi è in rapporto diretto col loro contenuto in proteine.

Accennato così alla presenza di grassi comuni e di lecitina nei semi, vediamo come si comporta il metabolismo di queste sostanze.

Per quanto riguarda il metabolismo dei grassi abbiamo numerose ricerche chimiche concernenti la quantità di queste sostanze nei semi in riposo e dopo varii periodi di germinazione:

Hellriegel[4]), Peters[5]), Muntz[6]), Detmer[7]) ed altri con ricerche

---

1) König, Chemie der Nahrungs- und Genußmittel. 3. Aufl. T. I. 1889.

2) Vedi: Czapek, Biochemie der Pflanzen. Jena 1905.

3) Stoklasa, Sitzungsber. d. Wiener Akad. Bd. CIV. 1896.

4) Hellriegel, Diss. Journ. prakt. Chemie. 1855.

5) Peters, Citato da Czapek.

6) Muntz. Ann. chim. Phys. T. XXII. 1871.

7) Detmer, Phys. Chem. Unters. über die Keimung ölhaltiger Samen. Leipzig 1875.

di questo genere sono giunti alla conclusione che durante la germinazione diminuisce sempre più la quantità di grasso. Così ad es. il primo di questi autori (Hellriegel), determinando il grasso nei semi di rapa in riposo ed in cinque periodi successivi di germinazione trova: nei semi in riposo 47,09 % di grasso e nei cinque periodi rispettivamente: 47,76; 43,77; 41; 38, 66; 36,22.

D'altra parte le ricerche di Muntz e di altri dimostrano che durante la germinazione diminuiscono i grassi neutri ed aumentano invece gli acidi grassi.

Per quanto riguarda il metabolismo della lecitina risultano dalle ricerche di parecchi autori dei dati molto importanti:

Schultze e Frankfurt[1]) trovano che mentre i semi immaturi di *Pisum sativum* contengono 0,5 % di lecitina, quelli maturi ne contengono 1.23 %.

Maxwel[2]) trova che nel *Faseolus* il rapporto tra la lecitina dei semi in riposo e quelli in germinazione è come 100 : 159.

Stoklasa nei semi di rapa in riposo trova che il contenuto in lecitina è di 0,45 %, mentre dopo 5 giorni di germinazione in date condizioni è di 5.22 %.

Gli autori sopra citati trovano anche un discreto contenuto in lecitina nella pianticella che si sviluppa dalla germinazione e ciò sotto l'influenza della luce, mentre quando questa viene sottratta, il contenuto in lecitina diminuisce notevolmente (Stoklasa), mentre è in aumento la colina.

In conclusione dunque da queste ricerche chimiche risultano i fatti seguenti:

1. Che i semi contengono grassi comuni e lecitina,

2. che i grassi diminuiscono durante la germinazione, mentre d'altro canto aumentano gli acidi grassi,

3. che la lecitina aumenta nella germinazione dei semi,

4. che il contenuto in lecitina è maggiore nella pianticella germinata sotto l'influenza della luce, mentre diminuisce quando questa i sottratta ed aumenta in questa ultima condizione il contenuto in colina.

Tali trasformazioni fanno subito pensare che esse si verifichino sotto l'influenza di enzimi lipasici: infatti oramai da numerose ricerche specialmente di Connstein, Hoyer e Wartenberg[3]), Nicloux[4]). Jokin[5])

---

[1]) Schultze und Frankfurt, Citato da Czapek.

[2]) Maxwell, Citato da Czapek.

[3]) Connstein, Hoyer und Wartenberg, Berl. Chem. Gesell. Bd. XXXV.

[4]) Nicloux, C. R. de l'Ac. des Sciences. T. CXXXVIII.

[5]) Jokin, Chem. Centr. Bd. II. 1903. — Bd. I. 1904.

ecc. risulta che i semi durante la germinazione contengono delle lipasi: queste secondo Green[1]) nei semi in riposo si troverebbero sotto forma di un lipozimogeno, il quale si trasforma in enzima sotto l'influenza degli acidi deboli.

Per quanto riguarda il metabolismo dei grassi studiato dal punto di vista citologico risulta da parecchie ricerche [Sachs[2]), Mesnard[3]) ecc.] che durante la germinazione dei semi tali sostanze subiscono delle modificazioni, che in genere si possono riassumere colla trasformazione di gocciole grosse in goccioline più piccole.

Ricerche personali.

Ho istituite delle ricerche istochimiche e citologiche sul seguente materiale:

1. Semi ricchi di sostanze grasse; tra questi ho scelto quelli di *Amigdalus communis.*

2. Semi piuttosto poveri di grassi; tra questi ho scelto quelli di *Faseolus vulgaris.*

3. Bulbi di *Allium sativum.*

I. Semi di Amigdalus.

Come facilmente si comprende la struttura dei semi varia a secondo che si studiano in periodo di riposo o di vita latente oppure in periodo di attività cioè durante la germinazione. Nel primo caso le cellule che costituiscono i cotiledoni sono molto sviluppate, hanno una membrana ben distinta ed un nucleo atrofico ed ipercromatico. Nel protoplasma troviamo una grande quantità di sostanze di riserva come: amido, aleurone, grasso; per l'indole del mio lavoro mi occupò solo di questa ultima sostanza.

Il grasso nei semi di mandorla è abbondante, tanto che in alcune cellule può costituire in massima parte il contenuto in materiali nutritizii: i caratteri di questo grasso sono i seguenti: a) Riduce in gran parte primieramente ed energicamente l'O_sO_4 e dopo osmizzazione è quasi insolubile nei solventi dei grassi (grasso stabile). b) In gran parte non si colora col metodo di Weigert nè si rende evidente col mio 1. metodo.

Ho detto in gran parte e non del tutto, perchè alcune cellule e specialmente quelle situate alla periferia contengono scarsi e piccoli granuli i quali si rendono evidenti col mio 1. metodo.

---

[1]) Green, Ann. of Bot. Vol. IV. 1890.

[2]) Sachs, Bot. Zeitung. 1859.

[3]) Mesnard, C. R. de l'Ac. des Sciences. T. CXVI.

Le cose variàno invece durante il periodo di attività, determinato dalla germinazione; esaminiamo ad es. una sezione di seme dopo circa una settimana di germinazione:

Il nucleo delle cellule cotiledonali si mostra ipertrofico, rotondo, con ben distinti granuli di cromatina e provvisto di un grosso nucleolo: nello stesso tempo assistiamo a notevoli modificazioni nel metabolismo del grasso, le quali sono tanto più accentuate quanto più ci avviciniamo alla periferia del seme oppure in vicinanza dell' embrione. Esaminando una sezione trattata col mio 1. metodo notiamo oltre a vacuoli che sono l'esponente del grasso disciolto: a) delle gocciole il cui contomo è colorato in rosso arancio ed il centro rosa od incoloro; b) delle gocciole totalmente ed intensamente colorate; c) finalmente dei fini granuli situati tra le gocciole anche essi intensamente colorati.

Col metodo 1A ed 1B si mettono in evidenza sempre tra le gocciole delle formazioni granulari e qualche volta bastonciniformi che assumono intensamente la fuxina acida o l'ematossilina ferrica.

Inoltre tra le cellule si notano spesso degli spazii ampii, che danno l'apparenza di un sistema vasale, e ripieni di una sostanza omogenea che col metodo 1. si tinge energicamente in rosso arancio. Finalmente nelle cellule dell' embrione si notano, relativamente al periodo di riposo più abbondanti le formazioni lipoidi.

II. Semi di Faseolus.

In questi semi notiamo dei fatti, che mentre nelle linee generali somigliano a quelli ora descritti, differiscono però in alcuni particolari. Come ho fatto per i semi di *Amigdalus* descriverò brevemente il modo di comportarsi delle sostanze grasse in un seme in riposo, ma maturo ed in un seme in germinazione.

Una cellula dei cotiledoni di *Faseolus* in riposo presenta: un nucleo a contorno irregolare, un po' raggrinzato ed ipercromatico; un protoplasma perinucleare finamente granuloso che si differenzia dal rimanente per la scarsezza dei materiali di riserva; una membrana che spicca per la sua rifrangenza e dello spessore di circa 2 μ. Nella zona di protoplasma perinucleare si notano numerose goccioline e granuli di natura grassa: essi in massima parte riducono scarsamente l'O_sO_4; col mio 1. metodo vediamo che alcune goccioline presentano un sottile contorno lipoide ed un centro disciolto; altre presentano una periferia colorata intensamente in rosso-arancio ed un centro in rosa; i granuli si colorano totalmente ed intensamente.

Nel resto del protoplasma troviamo numerosi e grossi granuli di amido

e dei granuli di aleurone: i primi si presentano allontanati tra loro ed in numero di 5 a 7 per cellula; gli ultimi sono molto ravvicinati tra loro e numerosi: intorno a ciascuno di questi granuli di aleurone si nota poi un sottile alone che in preparati allestiti col 1. metodo spicca per il suo colorito rosso-arancio, mentre il resto del granulo è colorato debolmente in bluastro con una nuance rosea dall' emateina. Questo alone lipoide osservato a forti ingrandimenti si mostra costituito di una serie di finissimi granuli situati uno accanto all' altro. Qualche granulo di natura lipoide si trova anche nello spessore della membrana.

Esaminiamo adesso una sezione dei cotiledoni di *Faseolus* dopo 4 a 5 giorni di germinazione:

Il nucleo è di dimensioni maggiori che nel periodo di riposo: la cromatina è disposta in forma di granuli e si nota un grosso nucleolo.

Il protoplasma perinucleare è più abbondante: in questo dopo trattamento col mio 1. metodo vediamo che mentre da una parte diminuiscono i vacuoli incolori, esponente del grasso disciolto dalle manipolazioni tecniche, aumentano invece le goccioline ed i granuli lipoidi. Un confronto stabilito tra i semi in germinazione e quelli in riposo fa pensare che nella prima i lipoidi sono fabbricati a spese dei grassi comuni.

Nel resto del protoplasma poi tra i granuli di aleurone si notano dei granuli lipoidi ben visibili, numerosi e disposti a rosario. La membrana apparisce più sottile e meno rifrangente. Tanto nel protoplasma perinucleare quanto tra i granuli di aleurone col procedimento 1A, 1B si mettono in evidenza dei piccoli granuli neri e rispettivamente rossi che in massima parte almeno pare corrispondino ai granuli lipoidi.

Finalmente l'attenzione viene richiamata da un fatto che non si osserva nei semi in riposo, e che già ho accennato a proposito dei semi *Amigdalus*, e cioè che tra le cellule dei cotiledoni si notano spazii ampii, riempiti di una sostanza omogenea che reagisce intensamente come i lipoidi e si colora anche coi processi 1A, 1B.

III. Bulbi di Allium sativum.

Esaminando una sezione condotta attraverso un bulbillo in stato di vita latente le cellule, specie degli strati più interni contengono abbondanti materiali di riserva come amido, aleurone ed anche delle goccioline di grasso. Queste della grandezza di 1 a 2 μ sono sparse nel protoplasma delle cellule più interne in numero di 5—8 per cellula; in quanto alle loro proprietà istochimiche si nota che le goccioline suddette riducono poco l'O_sO_4 ma di esse solo alcune si rendono dimostrabili col mio 1. metodo, mentre altre si presentano sotto forma di vacuoli.

Durante il germogliamento dei bulbi anzitutto si nota che i grassi comuni sono di molto diminuiti e le cellule sono spesso piene di formazioni lipoidi: queste come al solito si trovano sotto forma di granuli minuti e sotto forma di goccіole in cui il contorno si colora più intensamente del centro. In quanto alla distribuzione dei lipoidi abbiamo che nelle cellule a nucleo centrale essi sono situati intorno al nucleo, mentre nelle cellule a nucleo eccentrico essi sono situati alla periferia ed immediatamente all' interno della membrana nucleare. Mentre si verificano questi mutamenti negli elementi di riserva vediamo che le cellule della giovane pianticella che si sviluppa contengono egualmente granuli lipoidi sparsi nel protoplasma e della grandezza di 1 a 2 μ.

* * *

Ho voluto esporre brevemente il metabolismo cellulare dei lipoidi negli elementi di riserva dei vegetali per due ragioni: anzitutto per far notare che tale metabolismo si manifesta con modalità quasi simili nei due regni degli esseri viventi; e poi perchè questo materiale di studio si presta molto bene per stabilire dei principii di indole generale.

Infatti le ricerche isto-chimiche sopra riferite ci fanno conchiudere senz'altro che nei tessuti di riserva dei vegetali i grassi ed i lipoidi subiscono delle trasformazioni durante il periodo di attività. Tali trasformazioni si possono così riassumere:

1. Durante l'attività diminuiscono i grassi comuni.
2. Nelle stesse condizione aumentano i lipoidi.

Come si può agevolmente notare questi risultati generali che ci vengono forniti dalle ricerche istochimiche si accordano pienamente coi dati chimici.

La principale conclusione che ne deriva da questi dati è la seguente:

I lipoidi si possono formare a spese dei grassi comuni.

Ma con molta probabilità io credo che non sia soltanto questa l'origine dei lipoidi:

Schultze e Steiger[1]) hanno trovato che il contenuto in fosforo degli estratti eterei è sempre costante nei semi, ma non è completo: infatti esso aumenta con un successivo trattamento con alcool assoluto bollente. Ora questi fatti fanno logicamente supporre che i fosfatidi nei semi debbano trovarsi oltre che allo stato libero anche in combinazione con altre sostanze. A sostegno di questo modo di pensare cito le ricerche di Bing[2]), secondo le quali la lecitina si può trovare nelle piante in combinazione con idrati di carbonio, alcaloidi, glucosidi. D'altra parte Hellriegel,

---

[1]) Schultze und Steiger, Zeitschr. f. Phys. Chemie. Bd. XIII. 1889.
[2]) Bing, Skand. Arch. für Phys. Bd. XI. 1901.

Peters e Detmer hanno visto che in un primo periodo della germinazione dei semi aumenta il contenuto in grasso.

Questi dati messi insieme coi risultati delle mie ricerche su esposte fanno pensare che il grasso possa originare dalla scissione di sostanze complesse lipo-proteiche. Sull' esistenza di queste sostanze nei tessuti animali hanno richiamato l'attenzione Hoppe-Seyler e Liebermann: il primo sostiene che specialmente nelle uova si trovano delle sostanze, a cui ha dato il nome di vitelline, le quali trattate convenientemente si scindono in lecitina e pseudonucleina; il secondo ha isolato da parecchi tessuti animali sostanze simili a cui ha dato il nome di lecitalbumine. Sebbene sostanze simili non furono ancora, per quanto io mi sappia, isolate dai vegetali, pure per i fatti sopra accennati siamo condotti a supporne l'esistenza e molto probabilmente i granuli d'aleurone sono costituiti come le piastrine del vitello delle uova, di combinazioni lipo-proteiche.

Conclusioni.

In questo lavoro ho cercato di studiare da una parte la distribuzione dei lipoidi in alcune cellule animali e vegetali e d'altra parte il modo di comportarsi di tali sostanze in alcune condizioni fisiologiche e patologiche. Per essere completo avrei dovuto trattare del modo di comportarsi dei lipoidi nei tessuti embrionali e nei tessuti patologici. Per quanto concerne i tessuti embrionali ho avuto modo di studiare qualche embrione di cavia ed umano e sebbene in questi casi abbia ottenuto dei risultati soddisfacenti ed importanti pure non ho creduto di esporle per la scarezza del materiale avuto a mia disposizione. Per quanto concerne poi i tessuti patologici ho già in altri lavori accennato al comportamento dei lipoidi negli elementi infiammatorii, nei tumori ed infine ho brevemente illustrato un processo degenerativo a tipo lipoide »la cosidetta da me »degenerazione lecitinica«; spero del resto in lavori successivi di potere colmare le lacune.

Intanto prima di finire credo necessario dovere insistere sopra alcuni particolari, ai quali ho spesso accennato nel corso di questo lavoro.

* * *

Nel corso di questo lavoro abbiamo visto come i lipoidi fossero distribuiti in un gran numero di cellule in quantità più o meno rilevanti. Abbiamo inoltre visto che in alcuni elementi il metabolismo dei lipoidi con molta verosimiglianza si svolge a profitto dell' organismo intero o di un dato gruppo di elementi, mentre in altre si svolge a profitto della funzionalità dell' elemento in cui vengono elaborati. Alla prima categoria appartengono: la cellula adiposa, la cellula cortico-surrenale, la cellula di

Sertoli, la cellula luteinica, la cellula lecitinica, le cellule interstiziali del testicolo e dell' ovajo, alcune cellule dei vegetali ecc. Speciale interesse hanno poi un gruppo di cellule, che almeno provvisoriamente, potrebbero essere riunite in una stessa categoria e ciò in base ai caratteri morfologici e strutturali: in questo gruppo io intenderei riunire: le cellule lecitiniche, che, come abbiamo visto, si possono riscontrare in differenti località, le cellule interstiziali dei genitali, le cellule del connettivo interstiziale del rene di alcuni animali: senza pregiudicare sulla natura intima e sul destino fisio-patologico di tali cellule io credo che potrebbero riunirsi sotto la denominazione comune di »cellule lipoidi interstiziali« ed a seconda della località in cui si riscontrano aggiungere un altro appellativo; così si direbbe ad es. cellule lipoidi interstiziali del tessuto adiposo, del connettivo in genere, del testicolo, dell' ovajo, del rene.

* * *

In quanto all' aspetto sotto il quale si possono presentare i lipoidi nelle cellule abbiamo visto che essi possono trovarsi:

1. Sotto forma di granuli o di vescicole;
2. sotto forma diffusa;
3. ad avvolgere o ad impregnare alcuni costituenti protoplasmatici.

1. Le vescicole lasciano notare una parete ed un contenuto: la parete sotto l'influenza del Sudan si presenta di un colorito rosso-arancio intenso, il contenuto può presentare un colorito rosa od orange oppure esser eincoloro; in questo ultimo caso si possono avere due possibilità e cioè: o che il contenuto delle vescicole sia rappresentato da una sostanza grassa disciolta dai reattivi oppure essere costituito da una sostanza liquida qualsiasi come p. es. si verificherebbe nella cellula renale.

2. Tutte le cellule in generale dopo la cromizzazione e colorazione successiva col Sudan mostrano gran parte del protoplasma colorato in rosa od in orange più o meno intenso, mentre impiegando la stessa tinta su sezioni di pezzi fissati in alcool o nella miscela di Carnoy ciò non si verifica. In alcune cellule questa particolarità si osserva con una chiarezza notevole come p. es. nei megacariociti e nelle cellule giganti: se osserviamo una di queste cellule vediamo che il Sudan colora più o meno intensamente gran parte del protoplasma, ad eccezione di un sottile orlo periferico. Si tratta in questi casi realmente di un lipoide d'imbibizione oppure di un semplice fenomeno fisico che si verifica tra il colore ed il protoplasma? In realtà noi fino ad ora sappiamo che il Sudan è una sostanza specifica dei grassi e nel caso in parola avremmo una prova di più nel fatto che non si ottiene alcuna colorazione sui pezzi fissati in liquidi che sciolgono i grassi. Ciò sarebbe sufficiente per farci pensare che abbi-

amo da fare con una sostanza grassa, ma ad eliminare ogni dubbio posso portare avanti un altro argomento importantissimo: Sappiamo che il protoplasma cellulare dopo l'uso di una soluzione di acido osmico assume una tinta bruna, la quale diventa ancora più manifesta dopo passaggio in alcool: ora se noi trattiamo i pezzi o una sezione con sostanze le qua li sciolgono sicuramente il grasso osmiato come la trementina, vediamo che il protoplasma acquista una tinta sempre più chiara. Con molta evidenza possiamo osservare questo fatto nel seguente modo: Si striscia sopra un vetrino un frammento di midollo osseo di cane e si espone per 24 ore ai vapori di acido osmico; in tali condizioni il protoplasma dei megacariociti in modo assolutamente caratteristico assume una tinta grigio-nerastra, la quale sparisce dopo l'azione della trementina.

3. Finalmente nel corso di questo lavoro ho fatto rilevare che alcune formazioni protoplasmatiche, dopo trattamento col mio metodo, si colorano col Sudan più o meno intensamente, mentre d'altra parte le formazioni stesse sono visibili anche con altri procedimenti che sciolgono i grassi ed in tal caso non sono più colorabili col Sudan.

Tali condizioni abbiamo visto verificarsi per alcune speciali strutture come i bastoncini di Heidenhain dei tubuli contorti, per alcune granulazioni colorabili e per alcune formazioni pigmentate.

Data l'importanza che possono avere questi fatti nella fisio-patologia cellulare credo oppurtuno d'insistere un poco.

* * *

Grazie alle classiche ricerche specie di Altmann, Arnold, Galeotti, Benda abbiamo appreso che in quasi tutte le cellule sono dimostrabili dei granuli ed altre formazioni simili le quali si comportano in maniera caratteristica verso alcune sostanze coloranti e che furono intese varie denominazioni: bioblasti (Altmann); plasmosomi (Arnold); mitocondrii, condriomiti (Benda-Meves), pseudo-cromosomi (M. Heidenhain) ecc.

Il fatto che gran parte di tali formazioni si rendono visibili o con le colorazioni vitali o dopo l'uso di liquidi osmici o cromici già farebbe sospettare una certa relazione coi lipoidi; d'altra parte però altre proprietà fanno pensare che almeno nella loro costituzione debba entrare una sostanza proteica: Infatti v. Brunn dapprima e Benda dopo avrebbero notato che i mitocondrii sono solubili in acido acetico.

La natura lipoide di alcuni elementi granulari è stata messa avanti recentemente da Régaud, da Nageotte e da Launoy. Régaud[1]) pensa che i mitocondrii siano di natura lipoide appunto per il modo di compor-

---

[1]) Régaud, C. R. de la Soc. de Biologie. 1908.

tarsi; così essi non sarebbero visibili su sezioni di pezzi, fissati in picroformolo, ma si rendono dimostrabili se questi pezzi dopo la fissazione sono cromizzati; si rendono anche invisibili se tra la fissazione e la cromizzazione s'interpone un trattamento con alcool.

Nageotte[1]) ammette egualmente che i granuli di Held che si riscontrano nella sostanza grigia fuori delle cellule siano di natura lipoide.

Launoy[2]) descrive nelle cellule epatiche anche dopo un digiuno di 24 ore, delle formazioni granulari o cuneiformi, colorabili col brillantcresyl-blau, col Sudan e riducenti l'osmio: secondo questo autore tali formazioni, che egli chiama »corps lipoides« potrebbero essere costituite di un nucleo centrale termostabile di natura proteica e di una porzione periferica solubile nei solventi dei grassi e riducente l'osmio. Molto importanti per avvalorare questa dottrina sono le ricerche di Russo e quelle relative ai processi autolitici.

Russo[3]) avrebbe visto che i mitocondrii dell' uovo di coniglia, mentre diminuiscono nel digiuno, aumentano notevolmente in seguito all' iniezione di lecitina o di acido glicero-fosforico nel cavo peritoneale.

D'altra parte nell' autolisi di parecchi organi, com' è sufficientemente dimostrato, appaiono in gran numero delle formazioni mieliniche, le quali sono state in questi ultimi anni oggetto di ricerche accurate specialmente da parte di Albrecht e di Launoy.

Secondo Albrecht le formazioni mieliniche, colorabili col rossoneutro che si riscontrano nei tessuti in autolisi, possono originare tanto dal nucleo quanto dal protoplasma a spese di una sostanza mielinogena, la quale si troverebbe in debole combinazione con l'albumina a costituire dei granuli da lui detti »Liposomen«.

Un' opinione quasi simile è sostenuta da Launoy, il quale ammette che tanto dalla cromatina nucleare quanto dal protoplasma possono originare sostanze mieliniche colorabili col rosso-neutro e riducenti l'osmio »corpuscules osmio-rubérophiles«. Ad avvalorare il suo modo di vedere egli dice che: 1. les plasmosomes fuchsinophiles sont disparus en tant qu'éléments granuleux avant l'apparition des corps myéliniques; 2. il n'y a pas de formations myéliniques avant la dégénérescence nucléaire; 3. les formations myéliniques sont en tel nombre dans la cellule qu'il est impossible de leur reconnaître exclusivement une origine nucleaire«.

Tutti questi fatti per via più o meno indiretta dunque fanno pensare

---

1) Nageotte, C. R. de la Soc. de Biologie. 1909.

2) Launoy, Annales de l'Inst. Pasteur. 1908.

3) Russo, Bull. dell' Acc. Gioenia di Sc. Nat. di Catania 1908.

che nelle cellule esistano delle formazioni complesse lipo-proteiche e credo di avere fornito nel corso di questo lavoro una prova sufficiente di ciò in base alle immagini, fornite dai miei metodi d'indagine, e che qui ricorderò brevemente. Un esempio classico e caratteristico ci viene fornito dalle granulazioni dei leucociti, le quali specialmente quelle dei leucociti eosinofili del midollo osseo o dell' intestino si presentano colorate in bruno dopo l'uso dell' acido osmico ed in orange col Sudan. Che in questo caso si tratti di una sostanza lipoide rivestente il granulo non c'è dubbio: Infatti le proprietà anzidette di cui godono queste granulazioni non si verificano affatto in preparati fissati con sostanze solventi dei grassi; inoltre se si trattano le sezioni fissate in liquidi osmici con trementina o xilolo per un certo tempo la tinta bruna delle granulazioni sparisce.

Un fatto simile si verifica per i bastoncini di HEIDENHAIN delle cellule renali, per l'idiosoma delle cellule testicolari, per i granuli delle cellule adipose embrionali. Senza insistere ulteriormente con altri esempii io credo che si possa conchiudere per l'esistenza nelle cellule di formazioni complesse risultanti di un nucleo di natura proteica e di una sostanza lipoide di rivestimento o d'imbibizione. Aggiungo che siffate strutture io ho riscontrato finora solo nel protoplasma e mai nel nucleo in genere e nei suoi costituenti in ispecie.

Oltre a queste combinazioni lipo-proteiche di natura fisica, certamente debbono esistere nelle cellule delle vere combinazioni chimiche lipo-proteiche: Dal punto di vista chimico le ricerche di HOPPE-SEYLER e di LIEBERMANN ci dimostrano la verità di questa asserzione: infatti secondo HOPPE-SEYLER la ovo-vitellina risulterebbe da una combinazione di lecitina e di nucleo-albumina ed anche secondo questo stesso autore nella costituzione della emoglobina e della clorofilla entrerebbe come costituente la lecitina oppure una sostanze analoga. Secondo LIEBERMANN in parecchi organi si trovano sostanze, da lui denominate Lecitalbumine, le quali sotto l'influenza di dati agenti si sdoppierebbero in una proteina ed in lecitina.

Io nel corso di questo lavoro ho accennato alle vicende a cui vanno incontro in date condizioni del metabolismo cellulare il corpo vitellino di BALBIANI, l' idiosoma delle cellule testicolari, alcuni granuli delle placenta, i granuli di aleurone: in tali formazioni durante alcuni stati funzionali si vedono apparire dei granuli lipoidi che prima non erano dimostrabili come tali.

Ognuno vede l'importanza che tutti questi fatti possono avere nel metabolismo normale e patologico della cellula: Troppo lungi mi porterebbe anche un accenno alle relazioni tra i lipoidi ed il metabolismo cellulare, accennerò però brevemente al modo come potrebbero essere inter-

petrate le cosidette sostanze mieliniche che abbondano negli organi in autolisi o in preda a necrobiosi. A tal riguardo io penso che i lipoidi che in tali casi si riscontrano nelle cellule sotto forma di gocciole o di granuli e piuttosto abbondanti abbiano una doppia origine e cioè: in parte essi originano dai lipoidi preesistenti nelle cellule, i quali in tali condizioni subiscono delle modificazioni fisiche; in parte i lipoidi originano da un processo di sdoppiamento, forse di natura enzimatica, che si effettua sulle combinazioni chimiche lipo-proteiche. A questo processo ho dato il nome di degenerazione a tipo lipoide o lecitinica.

* * *

Nel corso di questo lavoro ed a proposito di cellule differenti ho spesso fatto menzione di formazioni che risultano dall' associazione di una sostanza pigmentata e di una sostanza lipoide. Queste speciali formazioni, descritte da parecchi autori in varii elementi cellulari, ma a preferenza nelle cellule nervose, furono oggetto di interpetrazioni differenti. Per alcuni si tratterebbe di un pigmento grasso o addirittura di lipocromo (Obersteiner, Rosin, Oberndorffer ecc.); per altri invece si tratterebbe di un associazione fisica tra un pigmento ed una sostanza grassa (Lubarsch, Sehrt). In quanto alla natura di questa sostanza grassa associata al pigmento questi ultimi autori hanno rilevato che essa relativamente ai grassi comuni presenta una certa resistenza ai solventi dei grassi; tale proprietà, secondo Mulon sarebbe dovuta alla combinazione di un acido grasso con una proteina.

A tale riguardo io ho istituito numerose ricerche per chiarire la natura di queste formazioni e quindi la sua importanza nel metabolismo cellulare.

Anzitutto nelle linee generali posso confermare i risultati delle ricerche di Lubarsch e di Sehrt: infatti in queste strutture si possono agevolmente riconoscere le proprietà seguenti.

1. Si lasciano colorare dal Sudan e da altre tinte specifiche dei grassi sopra sezioni di pezzi fissati in formolo e ottenute per congelazione o inclusione in un mezzo acquoso.

2. La colorazione col Sudan riesce positiva anche in parecchi casi quando alla fissazione in formolo, si fa seguire un trattamento con alcool forte od assoluto; se il formolo ha agito per molto tempo la colorazione riesce positiva anche dopo trattamento dei pezzi con etere.

3. In alcuni casi per le cellule interstiziali dell' ovajo e per le cellule luteiniche la colorazione col Sudan riesce positiva anche su sezioni di pezzi fissati in formolo ed inclusi in paraffina.

4. In tutti i casi la colorazione suddetta si può effettuare con ri-

sultati positivi quando i pezzi sono fissati in liquidi cromici oppure cromizzati.

Questi fatti dunque ci portano ad ammettere che ci troviamo di fronte a due sostanze almeno di cui una gode delle proprietà di un lipoide più o meno resistente all' azione dei solventi e di una sostanza pigmentata.

Studiando attentamente le cellule luteiniche ed interstiziali dell' ovajo in diverse condizioni fisiologiche e patologiche osserviamo dei fatti che possono portar luce sulle natura di queste sostanze. Così vediamo che nei suoi primi stadii funzionali il lipoide delle cellule luteiniche pur presentando una tinta gialletta si scioglie in alcool ed etere anche a freddo quasi allo stesso modo dei lipoidi surrenali: A misura che ci troviamo in stadii sempre più inoltrati il lipoide delle cellule luteiniche acquista mano mano caratteri tali da rendersi sempre più insolubili nei solventi; lo stesso può dirsi riguardo alle cellule interstiziali. Un reperto molto dimostrativo del genere ho avuto in un ovajo, affetto da sclerosi cistica e che espongo sommariamente: In sezioni di pezzi fissati in formolo al 15% per 6 giorni ed inclusi in paraffina si notano nelle cellule interstiziali e in quelle luteiniche dei granuli di varia grandezza, oscillanti per lo più tra i 2 a 3 μ e dei rari vacuoli; i caratteri di questi granuli sono i seguenti:

a) In sezioni colorati con emallume del Meyer i granuli non assumono il colore: in alcune cellule essi si mostrano di colorito appena gialletto o quasi incolori; in altri la tinta gialletta è più manifesta e finalmente per gradazioni successive specialmente in cellule luteiniche vecchie o nelle cellule interstiziali, situate alla periferia di corpi lutei in fase sclerotica, si riscontrano granuli e zolle di colorito giallo-bruno ed occupanti quasi l'intero protoplasma.

b) Gran parte dei granuli assumono dopo l'impiego del Sudan un colorito rosso-aranciato, alcuni un colorito orange piuttosto debole ed altri infine non assumono nessuna tinta; questi ultimi corrispondono ai granuli giallo-bruni.

c) Servendoci del bleu di toluidina, della tionina, della fuxina basica o della saffranina osserviamo egualmente nei granuli delle diverse nuances di bleu o di rosso.

Da questa descrizione si nota specialmente come fatto importante che alcuni granuli pur resistendo ai solventi e colorandosi elettivamente col Sudan, si presentano quasi incolori ed appena gialletti alla stessa guisa dei lipoidi di altri tessuti o delle stesse cellule luteiniche nelle prime fasi del loro metabolismo.

Che in tali condizioni (che d'altronde è possibile anche riscontrare in elementi diversi dalle cellule luteiniche) si tratti di sostanze lipoidi è

dimostrato oltre che dal loro modo di comportarsi col Sudan e con l'acido osmico anche da altri fatti: Così se le sezioni fissate in formolo sono sottoposte a lungo all' azione dei solventi oppure se i pezzi sono fissati direttamente nella miscela di Carnoy allora mentre da una parte si sciolgono alcuni tra i granuli quasi incolori o gialletti, quelli pigmentati non assumono più alcuna tinta col Sudan.

Per tutti questi caratteri ed ancora per il fatto che tali granuli lipoidi resistenti ai solventi e più o meno associati ad un pigmento hanno una topografia e distribuzione simile a quelle che si riscontra in cellule luteiniche nelle prime fasi della loro evoluzione, mi sento autorizzato a conchiudere che in date condizioni i lipoidi possono subire delle modificazioni tali da diventare sempre più insolubili nei solventi.

Di che natura sono le modificazioni siffatte a cui possono andare incontro i lipoidi?

Grazie alle nostre conoscenze acquisite sulle proprietà di alcuni lipoidi, come la lecitina, è possibile in certo modo rispondere a questa domanda. Ho ricordato infatti al principio di questo lavoro come dalle ricerche di Porges, Neubauer ed Iscovesco risulti che la lecitina precipita sotto l'azione di elettroliti e di colloidi. Parecchie ricerche da me istituite, ed alle quali accenno solamente, mi portano a conchiudere che la lecitina, finissimamente emulsionata od in soluzione colloidale, sotto l'azione di agenti differenti subisce modificazioni più o meno degne di nota: Così essa esposta all' aria oltre a diventare di un colorito bruno sempre più intenso si modifica riguardo alle sue proprietà di emulsionarsi o di sciogliersi nei solventi, diventando a lungo andare meno emulsionabile e meno solubile in alcool ed etere freddo. Questi caratteri alla loro volta si accentuano se si tratta la lecitina con sostanze differenti, le quali in linea generale manifestano un' azione tanto più pronunziata quanto più a lungo esse agiscono.

Sicchè dunque in base a questi fatti, che sono l'espressione delle proprietà colloidali di alcuni lipoidi, possiamo spiegarci i reperti citologici ai quali innanzi ho accennato e principalmente potremmo, credo, pensare: »che anche nelle cellule i lipoidi possono andare incontro a modificazioni tali da diventare sempre meno insolubili nei solventi dei grassi«. Resta ora a stabilire la natura del pigmento:

Innanzi abbiamo visto che esso è associato ad una sostanza grassa modificata nelle sue proprietà e di più abbiamo visto che esso non presenta i caratteri istochimici dei grassi, tanto vero che se con opportuni solventi allontaniamo il lipoide di rivestimento o d'imbibizione non è possibile ottenere alcuna colorazione col Sudan. Ciò stabilito, per quanto

riguarda la sua natura io credo che potremmo ammettere le due ipotesi seguenti:

1. O che tale sostanza pigmentata, rappresenti una successiva e più inoltrata denaturazione dei lipoidi, per cui questi si rendono del tutto insolubili da una parte, mentre dall' altra non reagiscono più col Sudan e coll' osmio.

2. Che il pigmento abbia origine da una sostanza la quale abbia determinato un processo di precipitazione o coagulazione dei lipoidi. In tal caso non si può stabilire la natura di tale sostanza, perchè i lipoidi possono precipitare con sostanze differenti e perchè i pigmenti possono originare da corpi diversi.

In favore della prima ipotesi starebbero parecchi argomenti e cioè:

a) Alcuni pigmenti come i lipocromi, hanno le proprietà dei grassi e secondo parecchi autori essi avrebbero una costituzione chimica simile a quella delle colesterine.

b) La lecitina presenta un colorito giallo o bruno, che si accentua quando essa è lasciata per lungo tempo esposta all' aria: tale colorito si osserva anche quando la lecitina viene ad essere purificata, sciogliendola in cloroformio e precipitandola con acetone ripetute volte.

c) In alcune cellule la distribuzione e la grandezza delle formazioni lipoidi e di quelle pigmentate si mantiene costante.

Forse è possibile che l'uno o l'altro o tutti i due fenomeni, corrispondenti alla 1a e 2a ipotesi, si verifichino in grado diverso a seconda delle cellule o delle condizioni in cui queste si trovano.

Spiegazione delle figure.

Fig. 1. Cellule adipose della cavità toracica di un gattino neonato; in A, B, C sono disegnati elementi in fase diversa. Metodo 1. Sudan III. — Emateina Obb. $^1/_{15}$ sem. ap. di Koristka. Oc. 4 comp.

Fig. 2. Cellule adipose del corpo grasso inguinale di *Bufo vulgaris*, esaminate nel mese di Marzo: a, $a_,$) cellule adipose in diversa fase funzionale; b) cellule lecitiniche; c) leucociti. Trattamento ed ingrandimento come sopra.

Fig. 3. Cellule adipose dell' epiploon di uomo in un caso di tubercolosi primitiva della milza: a) cellule adipose; b) cellule lecitiniche. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 4. Epiploon di un giovane cane, esaminato 24 ore dopo l'inoculazione di una piccola dose di tossina difterica: a, $a_,$ $a_{,,}$ $a_{,,,}$) cellule adipose in fase funzionale differente; b) cellule lecitiniche. Tratt. ed. ingr. come sopra.

Fig. 5. Epiploon di coniglio, esaminato 72 ore dopo l'inoculazione di due cm^3 di soluzione all' 1 % di tossina difterica. — Cellule adipose, trasformate in cellule lecitiniche. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 6. Vaso sanguigno dell' epiploon dello stesso animale della fig. 5a a,) Adventitialzellen di Marchand; b) cellula lecitinica; c) Plasmazellen. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 7. Stroma di un cancro della mammella (scirro): a) cellule lecitiniche; b) fibroblasti; b,) elementi connettivali contenenti granuli lipoidi, forse stadii di passaggio tra a) e b). Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 8. Infiammazione cronica della cute di uomo; a) cellule lecitiniche; a,) elementi connettivali contenenti granuli lipoidi (Vedi figura precedente); b) Plasmazellen, le quali in corrispondenza dell' alone chiaro justa-nucleare presentano granuli lipoidi. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 9. Cellule interstiziali del testicolo di topo. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 10. Cellule interstiziali del testicolo di *Rana* nel mese di Marzo. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 11. Da un tubulo seminifero di topo. Tratt. come sopra. Oc. 4, obb. 7 Koristka.

Fig. 12. Idem. Tratt. come sopra. Oc. 6 comp. obb. $^1/_{15}$ sem. ap. Koristka.

Fig. 13. Da un ovajo di gatta neonata. a a,, a,,) ovuli: *α*) corpo vitellino; b) cellula interstiziale. Tratt. come sopra. Oc. 4 obb. 7 Koristka.

Fig. 14. Cellula uovo di gatta. a,) corpo vitellino. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 15. Cellule interstiziali dell' ovajo di cagna. Tratt. come sopra. Oc. 4 comp. $^1/_{15}$ sem. ap. Koristka.

Fig. 16. Cellule luteiniche di cagna in una fase iniziale. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 17. Cellule luteiniche di cagna in una fase più avanzata. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 18. Cellula luteinica di cagna in una fase terminale. Tratt. ed ingr.come sopra.

Fig. 19. Cellula uovo giovane di *Bufo*. *α*) cellule follicolari; a) corpo vitellino. Tratt. come sopra. Oc. 4. Obb. 7 Koristka.

Fig. 20. Cellula uovo quasi matura di *Bufo*. a) cellule follicolari. Tratt. ed ingr. nella figura precedente.

Fig. 21 e 22. Cellule surrenali di *Rana*. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 23. Cellule della zona fascicolata della corteccia surrenale di cavia normale. a) cellula siderofila (Ciaccio). Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 24. Cellule della zona fascicolata di cavia gravida. a, a,, a,,) cellule siderofile. Tratt. come sopra. Oc. 2, obb. 7 Koristka.

Fig. 25. Cellula di un ganglio spinale di *Bufo* normale. a) cellula lipoide della capsula. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 26. Cellula di un ganglio spinale di *Bufo* (6 ore dopo l'iniezione di una soluzione al 5% di *NaCl* nel cavo peritoneale). a) cellula lipoide della capsula. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 27. Cellula di un ganglio spinale di *Bufo* (1 ora dopo la faradizzazione dello sciatico). a) cellule lipoidi della capsula. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 28 e 29. Cellule di un ganglio spinale di cane. Tratt. ed ingr. some sopra.

Fig. 30 a 36. Cellule nervose del midollo spinale di *Bufo*. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 37. Tubulo renale di *Rana*. a) cellula lipoide interstiziale. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 38. Tubulo renale di *Bufo*. a) cellula lipoide interstiziale. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 39. Porzione di un glomerulo renale di *Bufo*. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 40 a 43. Diverse fasi secretorie di cellule renali di *Bufo* poche ore dopo iniezione nel cavo peritoneale di una soluzione di *NaCl* al 5%. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 44 a 46. Cellule renali di *Bufo* in diversa fase di secrezione poche ore dopo l'iniezione di *KaJ*. Sudan — Wasserblau. — Ingr. come sopra.

Fig. 47. Tubulo contorto di coniglio iniettato con acido nucleinico. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 48. Sez. di un glomerulo di glandola sudorifera di uomo. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 49. Cellule della tiroide di cane digiuno da 3 giorni. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 50. Cellule dell' ipofisi di cane. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 51. Midollo osseo di un gattino di un mese. Tratt. ed ingr. come sopra. (V. Folia Haematologica 1909.)

Fig. 52. Milza di *Scillium catulus*. Tratt. ed ingr. come sopra. (V. Folia Haematologica. 1909).

Fig. 53. Timo di un gattino di un mese. a) cellule lecitiniche; b) mielociti; c) leucocito eosinofilo. Sudan-Emateina. Verde luce. Ingr. come sopra.

Fig. 54. Corpuscolo di Hassal di un gattino di un mese. Tratt. ed ingr. come nella figura precedente.

Fig. 55. Cellula muscolare del cuore di *Bufo* dopo un' iniezione di sol. di *NaCl* al 5%. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 56. Cellula gigante di un follicolo tubercolare. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 57. Cellule di un cancro della mammella. Sudan-Emateina. Verde luce. Ingr. come sopra.

Fig. 58. Cellule di un glioma del nervo acustico. (Caso, pubblicato dal Prof. Alagna). Sudan-Ematossilina ferrica. Ingr. come sopra.

Fig. 59 e 60. Cellule di un tumore a tipo cortico-surrenale. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 61. Cellule delle midolla surrenale di uomo, morto per tubercolosi polmonare. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 62. Cellule epatiche di coniglio trattato con tossina difterica. a) cellula di Küpfer. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 63. Cellule di un tubulo contorto del rene di un coniglio trattato con tossina difterica. (Rigonfiamento torbido.) Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 64. Tubulo contorto del rene di un cane, 24 ore dopo l'inoculazione di una brodo cultura di bacterium coli nel peritoneo. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 65 e 66. Cellule muscolari del cuore del coniglio, trattato con tossina difterica. (Sez. longitudinale e trasversa.) Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 67. Tubulo contorto del rene di uomo (nefrite interstiziale cronica). Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 68. Focolajo di caseificazione (Tubercolosi primitiva della milza). Tratt. ed ingr. come sopra.

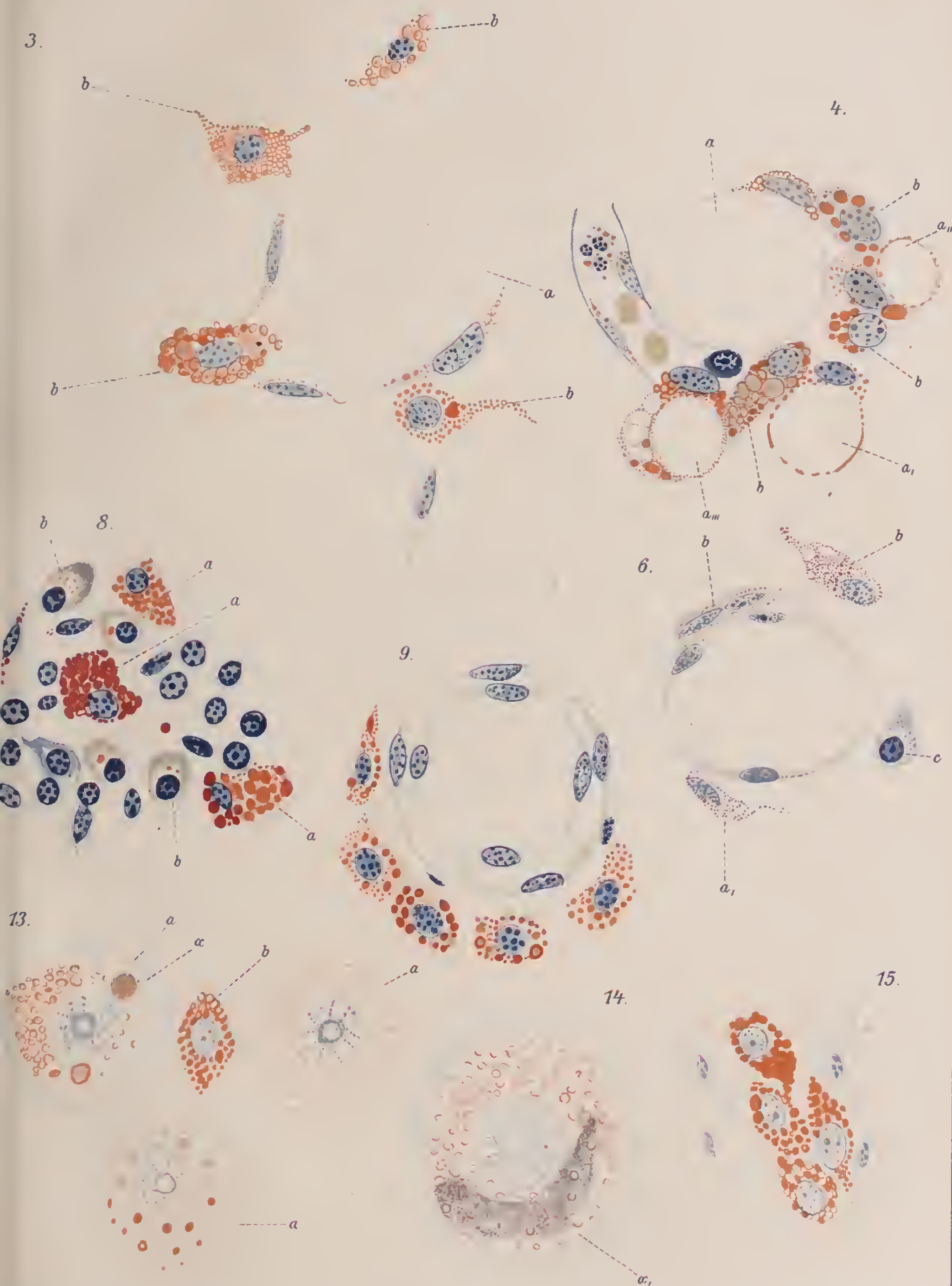
Fig. 69. Isola di Langerhans del pancreas di un uomo morto di cirrosi atrofica del fegato. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 70. Da un seme di *Amigdalus communis*. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 71 e 72. Da un bulbo di *Allium sativum*. Tratt. ed ingr. come sopra.

Fig. 73. Da un tubero di *Iris germanica*. Tratt. ed ingr. come sopra.

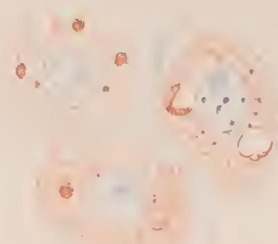

1.
B
C
A
2.
b)
b)
b
a
7.
a
a
c
a
a
b
c
b,
a
b,
5.
10.
11.
12



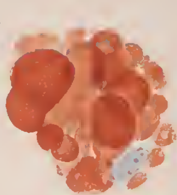
...elmann in Leipzig.

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

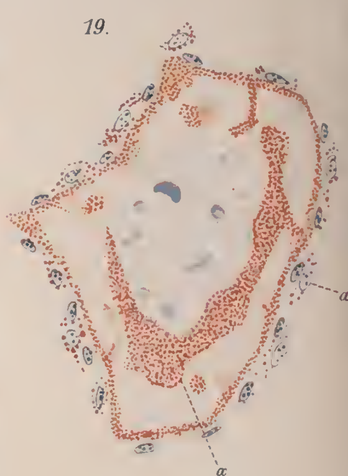
16.



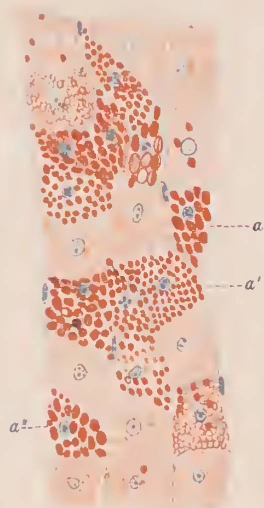
18.



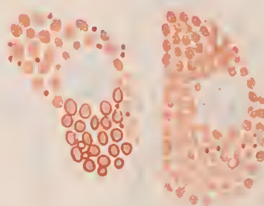
19.



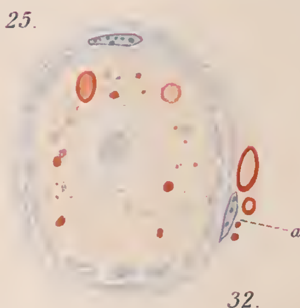
24.



17.



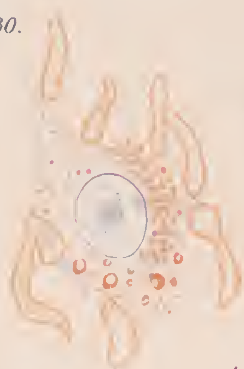
25.



26.



30.



32.



33. 34.



31.



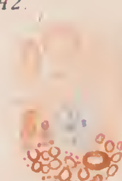
40.



41.



42.

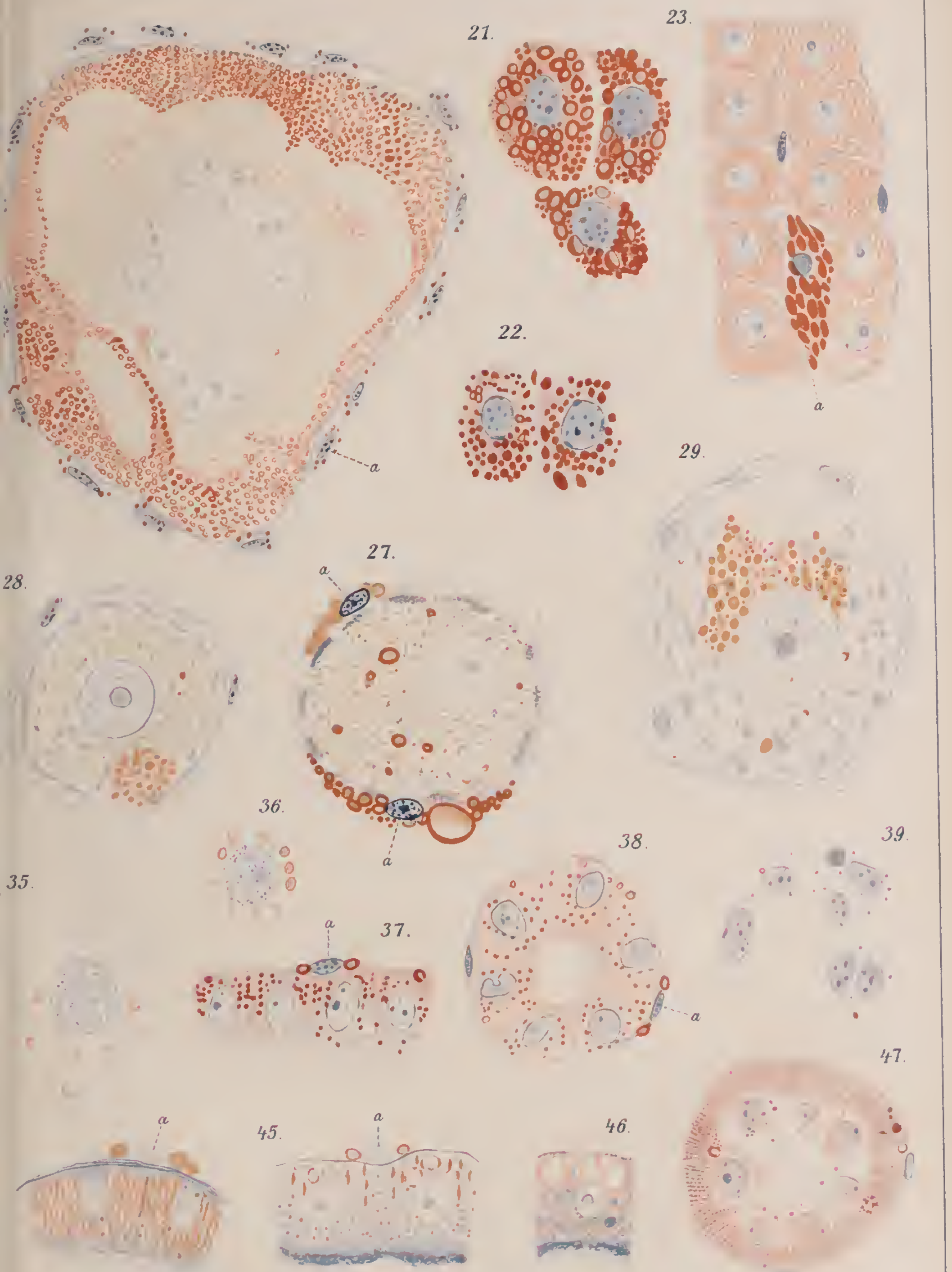


43.



Ciaccio ad nat del.

Verlag von Wi

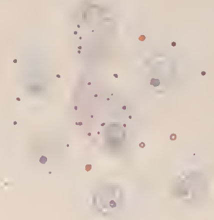


Engelmann in Leipzig.
Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

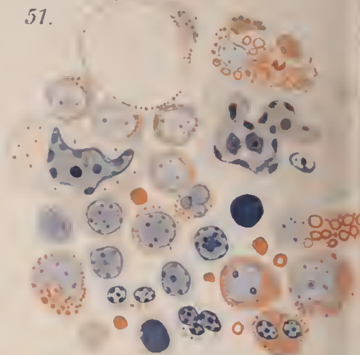
49



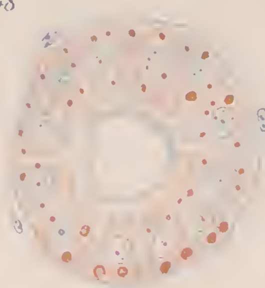
50.



51.



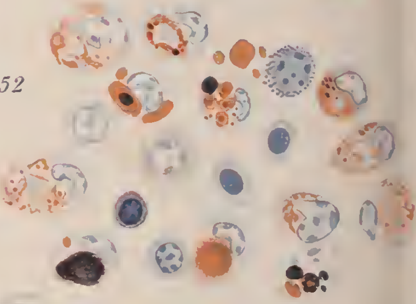
48



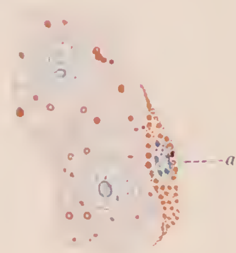
65.



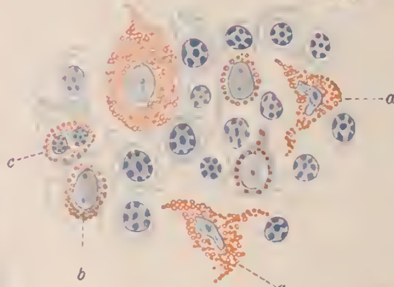
52



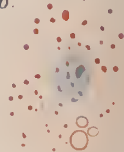
62.



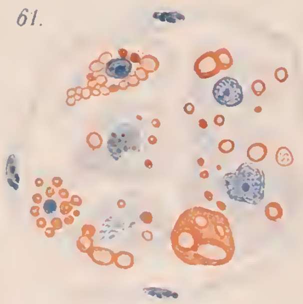
53.



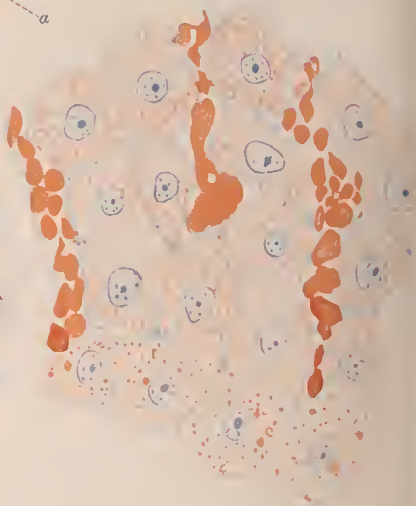
66.



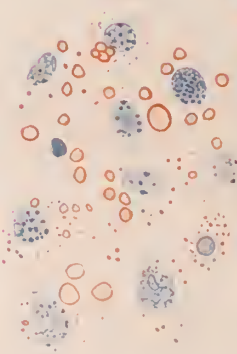
61.



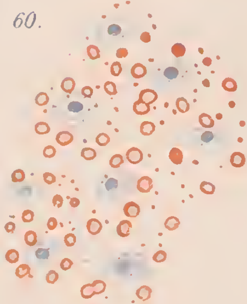
70.



69.



60.



Ciaccio ad nat del

Verlag von Wil

4 55 56. 58.

57. 63. 64. 59.

71

7.

73.

72.

68.

lmann in Leipzig.

Lith Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Zur Frage nach der Bedeutung der Amitose.

Von

Dr. M. Nowikoff.

Mit 2 Textfiguren.

Die ältere, von ZIEGLER (91) und v. RATH (91) vertretene Auffassung, daß die amitotische Kernteilung überall nur eine degenerative bzw. senile Erscheinung darstellen soll, findet in der letzteren Zeit immer weniger Anhänger. Die experimentalen, vorwiegend von Botanikern ausgeführten Untersuchungen zeigen, daß die Amitosen unter dem Einfluß der äußeren Faktoren, wie z. B. der niedrigen Temperatur, der narkotischen Stoffe, der reichlicheren Nahrung usw. auftreten können. Nach dem Zurückkehren in die normalen Bedingungen können sie wieder von Karyokinesen ersetzt werden. Ein und derselbe Zellkern ist also imstande, je nach Umständen, entweder mitotisch oder amitotisch sich zu vermehren.

Anderseits werden in der letzteren Zeit zahlreiche Fälle einer direkten Kern- und sogar Zellteilung in normalen Geweben beschrieben. So behauptet CHILD (07b), daß bei *Moniezia* die Amitose einen dominierenden Teilungsmodus nicht nur in somatischen, sondern auch in generativen Zellen darstellt. Im Laufe der ganzen Entwicklung dieses Bandwurms soll die Amitose häufiger als die Karyokinese hervortreten.

In meinen »Beobachtungen über die Vermehrung der Knorpelzellen« (08) habe ich den Satz aufgestellt, daß die Amitose in den Knorpelzellen durch einen äußeren Reiz, nämlich eine mechanische Dehnung der Zellen, hervorgerufen wird. In nachfolgenden Zeilen will ich einige neue Beobachtungen anführen, welche meinen Gedanken weiter bestätigen. Vor-

erst aber möchte ich mit ein paar Worten die, in meiner obengenannten Arbeit nicht berücksichtigten, in der letzteren Zeit veröffentlichten Literaturangaben besprechen.

Ein bedeutender Teil der vor einigen Jahren publizierten, eingehenden Arbeit Karpoffs (04) ist einer Widerlegung der Angaben anderer Autoren gewidmet, welche die Amitose in verschiedenen Objekten beobachtet haben. Eine sichere, mit einer Zerschnürung des Zelleibs verbundene, direkte Kernteilung findet Karpoff nur in den Leucocyten von Amphibien. Sie kann auch unter dem Deckglas erfolgen und stellt einen rein mechanischen Prozeß dar, welcher durch das Zusammenkleben des Leucocytenkörpers mit dem Objektträger bedingt wird. Dieses Zusammenkleben erschwert die freie Bewegung des Leucocyten, wodurch eine Ausdehnung und schließlich eine Zerreißung des Körpers des letzteren hervorgerufen wird. Eine direkte Kernteilung, welche zur Bildung von mehrkernigen Zellen führt, beobachtet der genannte Autor in der Epidermis von Amphibien, im Epithel der Harnblase von Säugetieren, im Epithel des Darmtractus von Vertebraten, in Follikelzellen, Spermatogonien, Ovariennährzellen und in wenigen anderen Geweben. Die übrigen von früheren Autoren beschriebenen Amitosen, wie z. B. in Leberzellen, Megakaryocyten usw. werden von Karpoff entweder als eine unvollständige Karyokinese aufgefaßt oder überhaupt geleugnet. Weiter bezweifelt Karpoff auch die Möglichkeit des Auftretens von Amitosen unter der Wirkung der äußeren Bedingungen, wie z. B. der Narkose und dgl. Die direkte Kernteilung beginnt mit der Bildung von Falten an der Kernoberfläche. Die Ursache der Faltenbildung sucht Karpoff in den physikalischen Eigenschaften des Kernes und in osmotischen Erscheinungen. Anderseits aber beschreibt er auch Amitosen, welche als Resultat einer rein mechanischen Ausdehnung oder Zerschnürung der Zellkerne aufzufassen sind.

Einen ganz andern Standpunkt vertritt Child in seinen mehreren Aufsätzen über die direkte Kernteilung. Die letztere ist nach ihm (07a) eine sehr häufige Erscheinung in den normalen Gewebszellen sowohl der Wirbellosen als auch der Wirbeltiere. Besonders häufig kommt die Amitose in den Organen vor, welche durch eine erhöhte Assimilationstätigkeit und durch ein beschleunigtes Wachstum charakterisiert werden. Anderseits wird die Karyokinese stets von cyclischen, die Amitose dagegen von acyclischen Prozessen begleitet. Das heißt, daß bei der karyokinetischen Teilung „the nucleus must be in a condition approximating equilibrium

between intake of material and functional transformation. If the stimulus to growth is so strong that the nucleus is forced far from a condition of equilibrium amitotic division may occur.“ Auf diese Weise ist „the relation between the stimulus to growth and the intake of material“ der Hauptfaktor, welcher diese oder jene Form der Kernteilung hervorruft (Child, 07b S. 171).

Die Ansicht, daß die direkte Kernteilung in den jüngeren Zellen häufig vorkommt, wird auch von Patterson (08) und Maximow (08) bestätigt. Der erstere Autor weist in seiner Arbeit „Amitosis in the Pigeon's Egg“ darauf hin, daß eine Karyokinese durch eine Amitose ersetzt werden kann und umgekehrt, weiter darauf, daß die direkte Kernteilung wahrscheinlich durch ein intensives Wachstum des betreffenden Gewebes hervorgerufen wird.

Maximow beobachtet in den Mesenchymzellen von jungen Kaninchenembryonen eine direkte Kernteilung, welche auch von einer Durchschnürung des Zelleibs begleitet wird. Solche Teilung hält er für »eine ganz normale, regelmäßig ohne Ausnahme wiederkehrende Erscheinung« (08 S. 97).

In seinem vor kurzem erschienenen Aufsatze kommt Godlewski (09) nach der Betrachtung der Literaturangaben zu dem Ergebnis, »daß aus der bisherigen Literatur sich keine einzige Angabe anführen läßt, durch welche ganz positiv bewiesen würde, daß die Amitose der Karyokinese nicht gleichwertig sein könnte« (S. 120). Den experimentellen Forschungen von Nathanson und andern, welche einen Einfluß der äußeren Faktoren auf die Form der Kernteilung beweisen, schreibt Godlewski ebenfalls eine bedeutende Rolle zu. Aus diesen Forschungen geht nämlich hervor, »daß die durch direkte Teilung entstandenen Kerne die Fähigkeit der karyokinetischen Teilungen nicht einbüßen.«

In einem gewissen Gegensatz zur Auffassung Childs steht die eben veröffentlichte Arbeit von Richards (09), welcher die Richtigkeit der Childschen Beobachtungen bezweifelt. Er hat weder in den generativen noch in den somatischen Zellen von Cestoden amitotische Teilungsfiguren gefunden. Manche von Child abgebildeten Figuren sucht er auf das Vorkommen der sog. Nebendotter (des Dotterkerns früherer Autoren) in den betreffenden Zellen zurückzuführen. Die Nebendotter nebst dem Zellkern machen nämlich oft den Eindruck von zwei, auf direktem Wege eben geteilten Tochterkernen. Als Untersuchungsmaterial benutzte Richards *Taenia marginata*, *Taenia serrata* und *Dypilidium caninum*. Die Zellen von *Moniezia* hat er nicht nachgeprüft, daher kann sein Aufsatz kaum als Widerlegung der Angaben Childs gelten, umsoweniger als

der letztere seine Untersuchungen nicht nur an Cestoden, sondern auch an andern Wirbellosen und an manchen Vertebraten ausführte.

Meine oben angeführte Auffassung, obgleich sie sich von den Angaben Childs wesentlich unterscheidet, steht mit ihnen jedoch kaum im Widerspruch. Sie kann vielmehr als eine Ergänzung derselben gelten. Child sucht die Ursache des Auftretens von Amitose in einer Störung des Gleichgewichts innerhalb der Zelle. Ich glaube, daß die direkte Kernteilung außerdem dort auftreten kann, wo das Gleichgewicht zwischen der Fähigkeit des Kernes zur Karyokinese, d. h. zwischen dem inneren Faktor und den äußeren Bedingungen gestört wird. Eine solche Störung tritt im Knorpel infolge einer mechanischen Ausdehnung des Zelleibs und dementsprechend auch des Kernes, welche zu einer Beschleunigung der Zell- oder wenigstens der Kernvermehrung führt, hervor. Die Ausdehnung wird ihrerseits durch das ungleichmäßige Wachstum verschiedener Regionen der Knorpelmasse verursacht. In einigen Regionen wird nämlich mehr, in andern weniger Intercellularsubstanz ausgeschieden. Im Perichondrium wird diese Substanz gar nicht gebildet, was eine starke Dehnung der Perichondriumzellen und eine große Anzahl von amitotischen Teilungsfiguren in denselben zur Folge hat (Nowikoff 08, S. 235—9).

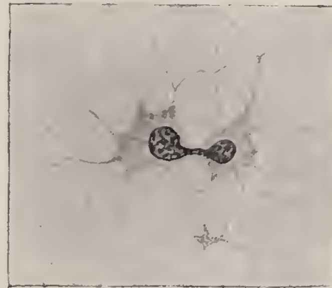
Nach dem Schluß meiner Knorpeluntersuchungen war es für mich von Interesse, die Richtigkeit meiner Auffassung durch das Studium anderer Bindegewebe, d. h. solcher Gewebe, wo das Wachstum nicht nur durch die Zellteilung, sondern auch durch die Bildung der Grundsubstanz erfolgt, zu prüfen.

Die erste Bestätigung meiner Auffassung erblicke ich jedoch in der oben schon zitierten Arbeit Maximows, welche nur einige Monate nach dem Erscheinen meiner Knorpeluntersuchung veröffentlicht wurde. In den Mesenchymzellen von Kaninchenembryonen findet Maximow an ganz bestimmten Körperstellen und »nur in ganz bestimmten Entwicklungsstadien« eine große Menge von Amitosen. Daneben sind auch einige karyokinetische Teilungsfiguren vorhanden. »Die beschriebene Kernamitose ist also an und für sich, ebenso wie in den Amphibienleukocyten der Randschicht der Leber, kein Hindernis für die mitotische Vermehrung der betreffenden Zelle«. Maximow bemerkt, daß nach einer amitotischen Kernteilung auch eine direkte Zellzerschnürung erfolgen kann. Bezüglich der Ursachen der Amitose schreibt er folgendes: »Patterson ... glaubt, daß Amitose dort eintritt, wo das Wachstum besonders energisch verläuft. Es ist möglich, daß auch in meinem Objekt an den betreffenden

Stellen dieselbe Ursache wirkt. Vielleicht kommen als ursächliche Momente auch rein mechanische Einflüsse, wie Dehnung des Gewebes u. dgl. in Betracht; daran könnte man z. B. denken, wenn man die Amitose im Mesenchym auftreten sieht, welches die sich rasch vergrößernde Leberanlage an der Peripherie umhüllt« (08, S. 97).

In der neueren Zeit war ich imstande, sehr schöne direkte Teilungsfiguren im Knochen zu beobachten. Es ist selbstverständlich, daß die vollständig ausgebildeten Knochenzellen sich nicht vermehren können. Die Osteoblasten dagegen, wenn sie von der Knochengrundsubstanz umhüllt werden und auf diese Weise sich in die Knochenzellen umwandeln, zeigen sehr oft verschiedene Stadien der Amitose (Textfig. 1). Die eben ausgebildete Grundsubstanz ist noch nicht von Kalksalzen imprägniert und wird, wie ich in meiner Arbeit über die Struktur des Knochens (09) ausführlich besprochen habe, einer starken Dehnung unterworfen. Dieser Umstand verursacht wohl auch hier das Auftreten der amitotischen Teilungen. Aus der beigegebenen Textfigur 1 ist ohne weiteres ersichtlich, daß im beschriebenen Falle nicht nur die Kerne sondern auch die Zellen auf direktem Wege zerschnürt werden. Die Amitose kann man hier als eine mechanische Ausdehnung bzw. als eine Zerreißung der Mutterzelle in zwei Tochterzellen auffassen. Daher erfolgt die Kern- und die Zellteilung gleichzeitig. Die beiden Tochterzellen bleiben nachher durch einen dünnen, im sog. Knochenkanälchen verlaufenden protoplasmatischen Faden miteinander in Verbindung.

Textfig. 1.



a



b

Amitosen im Knochen einer neugeborenen Maus. Vergr. etwa 1000. *a* Tibia. Längsschnitt. Alkohol 96⁰, Dahlia, Tannin, Brechweinstein. *b* Femur. Längsschnitt. Sublimat, Boraxkarmin, Blochmannsche Flüssigkeit.

Neben den amitotischen Teilungsfiguren, welche in einem ganz jungen Mausknochen durchaus nicht selten vorkommen, konnte ich in demselben Objekt keine einzige Mitose feststellen. Das deutet vielleicht darauf hin, daß die Zellen keine innere Anregung zur Teilung haben, und daß die letztere ausschließlich von äußeren Ursachen hervorgerufen wird. Das ursächliche Moment zur Amitose ist hier also ebenfalls eine Gleichgewichts-

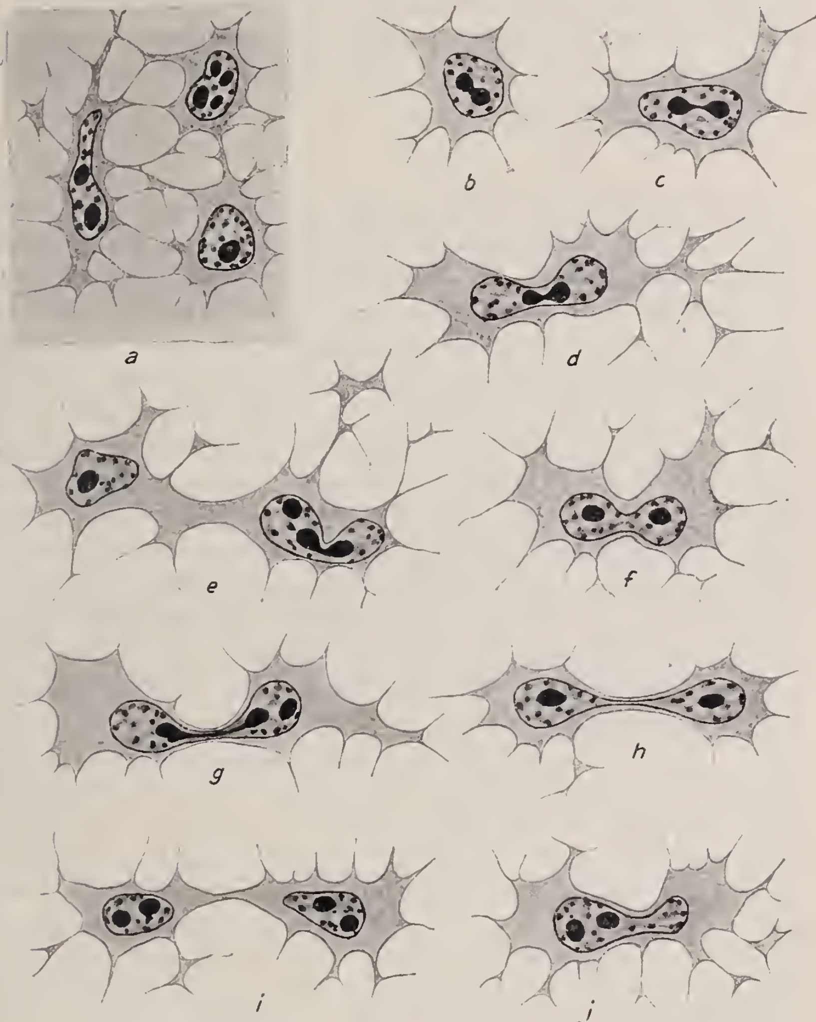
losigkeit zwischen dem inneren Zustand der Zelle und den äußeren, die Zelle zur Teilung zwingenden, Bedingungen.

Einen weiteren Fall der Amitose, welcher wohl von denselben Faktoren wie die vorherbeschriebenen verursacht wird, beobachtete ich in den Sehnen der Mausembryonen. Auf gut fixierten, mit Boraxkarmin und Bleu de Lyon behandelten Querschnitten durch das Bein einer neugeborenen Maus erscheinen die Zellkerne rot, das Protoplasma violett, die Grundsubstanz der Sehnen hellblau. Alle diese Bestandteile sind daher sehr deutlich zu unterscheiden. Die längsfaserige Grundsubstanz sieht auf Querschnitten feinpunktiert aus (Textfig. 2a) und wird durch zahlreiche, miteinander anastomosierende Zellenausläufer in größere und kleinere rundlich-polygonale Felder eingeteilt. Die Gestalt der Zellen und die der Kerne ist äußerst mannigfaltig. Die Intercellularsubstanz bildet sich hier sehr intensiv, wodurch ein ungleichmäßiges Wachstum der Sehnenmasse verursacht wird. Manche Zellen werden dabei stark gedehnt, was zu einer direkten Teilung sowohl des Kernes als auch des Zellkörpers führt. Die amitotischen Teilungsfiguren sind in solchen jungen Sehnen sehr zahlreich, so daß man auf einem und demselben Querschnitt alle möglichen Zerschnürungsstadien auffinden kann (Textfig. 2). Die Karyokinesen trifft man dagegen äußerst selten.

In den Kernen der Sehnenzellen unterscheide ich gewöhnlich ein bis zwei, ausnahmsweise auch mehrere (Textfig. 2a, rechts oben) Kernkörperchen. Die letzteren scheinen Fähigkeit zu besitzen, sich in zwei Tochternucleoli zu zerschnüren (Textfig. 2*b*, *c*, *d*). Eine solche Zerschnürung kann mit dem Anfang der Amitose zusammenfallen (*d*), erfolgt aber auch in ganz ruhigen Kernen (*b*, *c*). Bezüglich der Knorpelzellen habe ich schon früher (08, S. 233) gezeigt, daß eine Verdoppelung des Nucleolus nicht als erstes Kennzeichen einer bevorstehenden Amitose betrachtet werden darf. Dasselbe bestätigt sich auch beim Studium der Sehnen. In einigen sich direkt teilenden Zellen (Textfig. 2*f*, *h*) sehen wir, daß jeder der beiden Nucleoli in je einem späteren Tochterkerne liegt. In andern, zwei Nucleoli enthaltenden Kernen wird ein Kernkörperchen im Laufe der Amitose nochmals in zwei Teile durchgeschnürt (Textfig. 2*e*, *g*), so daß in einem Tochterkerne zwei, im andern nur ein Kernkörperchen sich erweisen. Weiter kann man in jeder Tochterzelle zwei Nucleoli finden (Textfig. 2*i*). Und schließlich kommen auch Fälle vor, wo die beiden Nucleoli, wenigstens am Anfang der Amitose (Textfig. 2*j*), in einem Kernende nebeneinander liegen. Alle diese Bilder zeigen, daß die Vermehrung der Kernkörperchen in keinem Zusammenhang mit der direkten Kernteilung steht.

In den meisten, von mir beobachteten Amitosen sind die beiden Tochterkerne ihrer Größe nach einander mehr weniger gleich. Sie scheinen

Textfig. 2.



Amitosen in der Sehne einer neugeborenen Maus. Querschnitt durch das Bein. Alkohol 96°, Boraxkarmin, Bleu de Lyon. Vergr. etwa 1200.

beide lebensfähig zu sein sowohl in dem Falle, wo jeder von ihnen in je eine Tochterzelle übergeht, als auch dann, wenn sie beide (wie z. B. im Knorpel der Fall sein kann) in einer und derselben Zelle (Mutterzelle)

bleiben. Nur in selteneren Fällen finde ich eine Art der Kernknospung (Textfig. 2*j*), wobei auch hier die beiden Tochterkerne meistens funktionsfähig sind. Der kleinere Kern scheint dabei, soweit man nach dem Studium der Schnitte beurteilen darf, allmählich zu normaler Größe zu wachsen. Die Möglichkeit einer Degeneration ist nur für diejenigen kleinen Kernknospen wahrscheinlich, welche, zusammen mit dem größeren Tochterkern, in einer ungeteilten Zelle liegen, d. h. für solche Knospen, welche oft als Nebenkerne bezeichnet werden.

Manche Autoren unterscheiden zwei Arten der Amitose. Die erste beginnt mit einer Verlängerung des Zellkerns, welcher später eine biskuitförmige Gestalt annimmt. Die Brücke zwischen den beiden angeschwollenen Kernenden wird immer feiner und zerreißt schließlich vollständig. Die Amitose zweiter Art erfolgt durch die Bildung einer Falte an der Kernmembran, welche in das Kerninnere wächst und auf diese Weise den Zellkern in zwei Hälften zerschnürt. Die beiden Amitosenarten werden von Wasielewski (03, 04) als Distraktion und Dissektion bezeichnet. In den von mir zuletzt untersuchten Objekten, d. h. im Knochen und in den Sehnen von Mausembryonen, treffe ich ausschließlich den ersteren Typus der direkten Kernteilung. Im Knorpel dagegen war ich imstande, nicht nur die beiden Amitosentypen, sondern auch allmähliche Übergänge zwischen ihnen festzustellen, so daß ich es kaum für berechtigt hielt, »sie als zwei verschiedenartige Prozesse zu unterscheiden« (08, S. 232). Jetzt möchte ich jedoch hervorheben, daß nur der erste Modus der direkten Kernteilung ausschließlich durch mechanische Dehnung erklärt werden kann. Diesem Modus begegnen wir hauptsächlich an der Knorpeloberfläche, weiter im Knochen und in den Sehnen, also dort, wo die Wirkung einer Dehnung des Gewebes nicht zu bezweifeln ist. In den inneren Regionen der Knorpelmasse finden wir dagegen zahlreiche Amitosen des zweiten Typus. Der Zellkern wird dabei verhältnismäßig wenig in die Länge ausgezogen, und man kann vermuten, daß bei diesem Teilungsprozeß neben einem ungleichmäßigen Wachstum des Gewebes auch andere Faktoren eine gewisse Rolle spielen, wie z. B. die von Karpoff angegebenen Ungleichmäßigkeiten in der Verteilung der Diffusionsströme an verschiedenen Teilen der Kernoberfläche.

Zum Schluß möchte ich die Frage besprechen, ob das Centrosom nebst der Attraktionssphäre für die amitotische Kernteilung von irgend welcher Bedeutung sind. In zahlreichen, bis jetzt erschienenen Amitosenuntersuchungen finden wir darüber nur wenige Angaben. Das einzige

mir bekannte Beispiel einer aktiven Rolle der Attraktionssphäre bei der Amitose ist von MEVES (91) beschrieben worden. In den Spermatogonien des Salamanders nimmt nämlich der Zellkern eine hantelförmige Gestalt an; die Attraktionssphäre bildet sich dabei in einen Ring um, welcher die Verbindungsbrücke zwischen den beiden angeschwollenen Kernenden umgibt. Der Ring scheint allmählich enger zu werden und auf diese Weise den Zellkern in zwei Teile zu zerschnüren.

Bei der amitotischen Teilung derjenigen Knorpelzellen, welche zwei Centralkörper enthalten, werden die letzteren in je eine Tochterzelle wohl passiv aufgenommen (NOWIKOFF 08, Fig. 45). Weder ihrer Größe noch ihrer Tinktionsfähigkeit nach unterscheiden sich diese Centralkörper von denen der ruhigen Zellen. Deutliche Centriolen wurden auch von MAXIMOW bei der Amitose in den Mesenchymzellen beschrieben. »Das Centriolenpaar liegt immer neben der Kernmembran, entsprechend der den Kern zerteilenden Furche«, wie es auch von FLEMMING angegeben wird. »Es gibt aber auch Ausnahmen von dieser Regel, und die Centriolen können oft an der der Furche entgegengesetzten Seite der Kernoberfläche liegen« (MAXIMOW 08, S. 91,2). Diese Angaben legen den Gedanken nahe, daß die Centrosomen bei solchen Amitosen keine leitende Rolle spielen. Sie können wahrscheinlich entweder beide zusammen in eine Tochterzelle gelangen oder zwischen den beiden Tochterzellen verteilt werden. Von diesem Umstande hängt wohl die Möglichkeit für die betreffende Zelle ab, nach der Amitose nochmals auf karyokinetischem Wege sich zu vermehren. Die centrosomlosen Zellen würden eine solche Möglichkeit kaum besitzen.

In den übrigen von mir untersuchten Objekten, d. h. in den jungen Knochen und Sehnenzellen ist es mir überhaupt nicht gelungen, ein deutliches Centrosom aufzufinden. Das möchte ich damit in Zusammenhang bringen, daß in den genannten Zellen die Karyokinese entweder gar nicht oder nur sehr selten auftritt. Wir sehen also, daß ein deutlich sichtbares Centrosom nur diejenigen Zellen charakterisiert, welche sich mitotisch zu vermehren imstande sind. Wenn wir das Centrosom für sämtliche tierische Karyokinesen als unentbehrlich betrachten müssen, so scheint es für die direkte Kernteilung, vielleicht nur mit wenigen Ausnahmen, vollständig unnötig zu sein. Das stimmt auch mit der oben erwähnten Angabe, daß eine funktionelle Amitose nicht von den inneren Zuständen der Zelle, welche das Auftreten von mitotischen Teilungen beeinflussen, sondern von äußeren Bedingungen verursacht wird, überein.

Moskau (Vergleichend-anatomisches Institut d. Univ.), im Januar 1910.

Verzeichnis der zitierten Literatur.

Child, C. M. 1907*a*. Amitosis as a Factor in normal and regulatory Growth. Anat. Anzeiger. Bd. XXX.

—— 1907 b. Studies on the Relation between Amitosis and Mitosis. Biological Bull. Vol. XII, XIII.

Godlewski jun., E. 1909. Das Vererbuugsproblem im Lichte der Entwicklungsmechanik betrachtet. Leipzig.

Karpoff, W. 1904. Untersuchungen über die direkte Zellteilung. Moskau. (russisch)

Maximow, A. 1908. Über Amitose in den embryonalen Geweben bei Säugetieren. Anat. Anzeiger. Bd. XXXIII.

Meves, F. 1891. Über amitotische Kernteilung in den Spermatogonien des Salamanders und das Verhalten der Attraktionssphären bei derselben. Anat. Anzeiger. Bd. VI.

Nowikoff, M. 1908. Beobachtungen über die Vermehrung der Knorpelzellen nebst einigen Bemerkungen über die Struktur der »hyalinen« Knorpelgrundsubstanz. Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd. XC.

—— 1909. Untersuchungen über die Struktur des Knochens. Ebenda. Bd. XCII.

Patterson, J. Th. 1908. Amitosis in the Pigeon's Egg. Anat. Anzeiger. Bd. XXXII.

vom Rath, O. 1891. Über die Bedeutung der amitotischen Kernteilung im Hoden. Zool. Anz. Jahrg. XIV.

Richards, A. 1909. On the Method of Cell Division in Taenia. Biological Bulletin Vol. XVII.

Wasielewski, W. v., 1903—04. Theoretische und experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Amitose. Jahrb. f. wissensch. Botanik. Bd. XXXVIII, XXXIX.

Ziegler, H. E. 1891. Die biologische Bedeutung der amitotischen (direkten) Kernteilung im Tierreich. Biolog. Centralbl. Bd. XI.

Studien über die Zellgröße.

Erste Mitteilung.

Über das Verhältnis zwischen der Zellgröße und der Gesamtgröße des wachsenden Organismus.

Von

Dr. Andreas Berezowski

(Krakau).

I. Einleitung.

Die Frage, ob und in welchem Grade ein Zusammenhang zwischen der Größe der Zellen und der Kerne einerseits, und der Gesamtgröße des Organismus anderseits besteht, wurde schon vielfach auf dem botanischen und zoologischen Gebiete untersucht, ohne zwar zu einer bestimmten Lösung zu führen.

Die Botaniker Amelung (1) und Strasburger (2), die Zoologen Rabl (3), Driesch (4), Conklin (5), Morgan (6) und Levi (7) haben die Meinung ausgesprochen, daß die Größe eines Organismus oder eines Organs durch die Zellenzahl und nicht durch die Zellgröße beeinflußt wird: die Zellgröße ist innerhalb einer gegebenen Tierspezies konstant. Auch die bekannten Messungen von Boveri (8) an den Epithelzellen der Zungenschleimhaut von Riesen, Zwergen und normalen Menschen bestätigten die oben erwähnte Meinung. Doch wird nach Boveri die Zellgröße durch den Chromatingehalt der Zelle beeinflußt. Nach Boveris Untersuchungen über Seeigellarven ist die Zellgröße der in den Zellen enthaltenen Chromosomenzahl direkt proportional. Die Vergleichung der Zellen mit verschiedenem Chromatingehalt gab Boveri den Anlaß zu folgender Äußerung[1]):

»... die Zellgröße spezifischer Organzellen gar nicht eine absolut fixe, in den Spezieseigenschaften begründete ist, so

---

[1]) Zellen-Studien. Heft 5. S. 68.

daß sie überall, wo ein normaler Organismus dieser Spezies gebildet wird, die gleiche sein müßte. Vielmehr ergibt sie sich, wie wir oben feststellen konnten, als eine Folge des Chromatingehalts der Zelle.«

In diesen Worten von Boveri sehe ich einen Übergang zwischen der Meinung der oben zitierten Forscher und derjenigen, welche die Abhängigkeit der Zellgröße von der Größe und dem Kerninhalt der Ausgangszelle annimmt. So haben Gerasimoff (9) auf Grund seiner Untersuchungen über Spirogyrenzellen, die das doppelte Kernmaterial einer gewöhnlichen Zelle hatten, und zur Strassen (10) auf Grund des Riesenwuchses von Zellen einer Riesenform von *Ascaris megalocephala* die Anschauung geäußert, daß:

1. die Kerngröße die Zellgröße bestimmt (Gerasimoff) und
2. die Größe der Zelle von der Größe der Ausgangszelle abhängt (zur Strassen).

In den letzten Jahren haben Popoff (11) und Chambers (12) die Vermutung ausgesprochen, daß die Zellgröße für eine bestimmte Tierspezies nicht etwas Konstantes ist und abhängig von der Größe der Ausgangszelle variieren kann.

Bei Besprechung der Relation zwischen Zellgröße und Gesamtgröße des Organismus muß das Alter des Tieres in Betracht gezogen werden, als Faktor, der Schwankungen der Zellgröße hervorrufen kann. Auf diesem Gebiete sind die Arbeiten von Baum (13), Gerlach (14) und Illing (15) über die Größe der Leberzellen bei ausgewachsenen und wachsenden Tieren, dann auch die Untersuchungen von Cohnstein und Zuntz (16) über die Größe der Blutkörperchen bei jungen und alten Tieren, zu erwähnen. Die Resultate der genannten Untersuchungen waren verschieden. Einerseits ist, nach Baum und Illing, eine Vergrößerung der Leberzellen bei ausgewachsenen Tieren im Vergleich mit wachsenden festzustellen; anderseits haben Cohnstein und Zuntz eine Abnahme der Zellgröße bei alten Tieren bemerkt.

Um einen Beitrag zur Lösung dieser Frage zu bringen, habe ich der Veranlassung von Herrn Geheimen Hofrat Prof. R. Hertwig in München folgend, beabsichtigt, die Zellgröße bei weißen Mäusen, die aus demselben Wurfe stammen, auf verschiedenen Altersstufen zu untersuchen. Um diese Forschung möglichst präzis zu gestalten, habe ich methodologische Untersuchungen hinsichtlich des geeignetsten Organs für Zweck der Zellenmessung, dann auch der besten Fixierungsflüssigkeit und des Färbungsverfahrens angestellt.

II. Methodologische Untersuchungen.

Die Zellenmessungen dürfen nur in dem Falle als richtig angesehen werden, wenn alle Umstände, die einen Irrtum und demzufolge falsche Resultate verursachen können, möglicherweise beseitigt worden sind. Die wichtigste Fehlerquelle scheint mir das Messen von dazu ungeeigneten Zellen zu sein. Um mich in dieser Frage zu orientieren, habe ich folgende Zellen bei weißen Mäusen untersucht:

1. Epithelzellen der Zungenschleimhaut,
2. Epithelzellen der Magenschleimhaut,
3. Epithelzellen des Darms beim Pylorus,
4. Leberzellen,
5. Epithelzellen der Nierenkanälchen,
6. Knorpelzellen des Os sternum,
7. Purkinjesche Zellen des Kleinhirns.

Die Epithelzellen der Zungenschleimhaut, der Magenschleimhaut und der Nierenkanälchen haben im Vergleich mit dem Darmepithel den Nachteil, daß das Vorfinden von rechteckigen Zellen, deren Oberfläche man am leichtesten messen kann, bei ihnen schwieriger ist, dann auch kann die anatomische Bestimmung des Ortes, wo das Organ abgeschnitten und die Zellen gemessen wurden, nicht so genau sein, wie beim Darmepithel. Die Knorpelzellen des Os sternum halte ich auch für kein günstiges Messungsmaterial, weil sie den eigentlichen typischen Zellencharakter verloren haben.

Die Purkinjeschen Zellen des Kleinhirns haben unregelmäßige Umrisse und die Grenzen des Zellenkörpers und der Verästelungen der Zelle sind schwer zu ermitteln. Deswegen ist die Möglichkeit eines Irrtums beim Messen sehr groß. Levi[1]) hat die Purkinjeschen Zellen als kreisförmige angenommen und gemessen. Bei weißen Mäusen würde, meiner Ansicht nach, so ein Verfahren unrichtig sein. Das günstigste Material aber für Zellenmessungen bieten die Leberzellen und die Darmepithelzellen dar. Ich habe die Darmepithelzellen gewählt und zwar aus folgenden Rücksichten:

1. Das Vorfinden von prismatischen, rechteckigen Zellen ist verhältnismäßig leicht.

2. Die anatomische Bestimmung des Ortes, wo das Organ abgeschnitten wurde (beim Pylorus), ist genau.

---

[1]) l. c. S. 335.

3. Die Zellen, welche gemessen wurden, können auch ziemlich genau bezeichnet werden. In meinen Messungen wählte ich nur die Zellen, die seitwärts auf dem dem Lumen zugewandten Ende der Zapfen lagen.

Die sekretorische Tätigkeit der Darmepithelzellen wirkt auf deren Größe in einem Grade, der die Ergebnisse der Messungen nicht beeinflußt. Eine Bestätigung dieser Meinung sehe ich in der Übereinstimmung der Messungsergebnisse bei allen drei Tierfamilien, die ich untersuchte. Infolgedessen halte ich die Darmepithelzellen der Mäuse für ein günstiges Material für die Zellenmessungen.

Die zweite methodologische Frage, auf die ich eine Antwort suchte, war die Auswahl einer Fixierungsflüssigkeit, bei der die Zellen nicht schrumpfen und deshalb ihre natürliche Grenze erhalten bleibt. Ich untersuchte zu diesem Zwecke folgende Fixierungsflüssigkeiten:

1. die von Carnoy,
2. die von Zenker,
3. Sublimateisessig,
4. Formol.

Von den vier erwähnten Fixierungsmethoden ergaben die besten Resultate Sublimateisessig und Formol. Von den beiden möchte ich Sublimateisessig den Vorzug geben. Was die Färbungsmethoden anbelangt, so habe ich die drei häufig benutzten untersucht:

1. Eisenalaun und Eisenhämatoxylin nach Heidenhain.
2. Bordeauxrot; Eisenalaun und Eisenhämatoxylin nach Heidenhain.
3. Boraxkarmin und Hämatoxylin Delafield.

Unzweifelhaft kann ich das erste von diesen drei Färbungsverfahren als das beste zum Zwecke der Zellenmessungen nennen. Bei Anwendung von Eisenalaun und Eisenhämatoxylin nach Heidenhain traten die Zellen- und Kernumrisse am deutlichsten hervor.

Die Schnitte wurden in der Dicke von 5 Mikra hergestellt.

III. Ergebnisse der Zellenmessungen bei weißen Mäusen auf verschiedenen Altersstufen.

Um eine Antwort auf die Frage, die ich mir gestellt habe, zu bekommen, mußte ich auf verschiedenen Altersstufen einerseits die Gesamtgröße der Versuchstiere, anderseits ihre Zellgröße ermitteln. Als Material für meine Untersuchungen dienten drei Familien von weißen Mäusen, die ich mit den Buchstaben A, B und C bezeichne. Jede Familie bildete einen Wurf; die Ernährungsbedingungen waren die gleichen. Familie A bestand aus 6 Geschwistertieren, Familie B aus 5 Tieren, in der Familie C sind leider

nur 3 Individuen am Leben geblieben. In jeder Familie wurde zuerst ein Tier 10 Tage nach der Geburt durch einen kräftigen und plötzlichen Hieb getötet und untersucht. Danach entnahm ich jeder Familie je ein Tier nach 1 Monate nach der Geburt, später nach 2, 3, 4 und 5 Monaten nach der Geburt. Nach 5 Monaten sind die Mäuse schon vollständig ausgewachsen. Die Gesamtgröße jedes Tieres ermittelte ich durch Einsenkung

Tabelle I.

Familie A.

N N der Versuchstiere			I nach 10 Tagen	II nach 1 Monat	III nach 2 Monaten	IV nach 3 Monaten	V nach 4 Monaten	VI nach 5 Monaten
Volumen in ccm.			4	7	14	20	21	25
Zelle	Länge in Mikr.	Durchschnitt. .	14,3	18,9	20,2	22	21.7	23,2
		Maximum . . .	17	25	25	28	30	30
		Minimum . . .	11	15	13	14	15	17
	Breite in Mikr.	Durchschnitt . .	4,9	4,9	5,1	4,8	5,1	4,7
		Maximum . . .	7	6	6	7	7	6
		Minimum . . .	4	4	4	4	4	3
Kern	Großer Durchm. in Mikr.	Durchschnitt	4,8	5.2	6,3	5,8	6	5,7
		Maximum . .	6	7	9	9	8	8
		Minimum . .	2	4	5	4	4	4
	Kleiner Durchm. in Mikr.	Durchschnitt	4,1	4.3	4,1	3,7	4,1	3,8
		Maximum . .	6	5	5	5	6	5
		Minimum . .	2	3	2	2	3	2
Oberfläche der Zelle			70,1	92,6	103	105,6	110,7	109
Oberfläche des Kernes.			15,4	17,5	20.3	16,8	19,3	17
Kernzellrelation			4.5	5,3	5,1	6,3	5,7	6,4

in ein graduiertes Zylindergefäß mit physiologischer Kochsalzlösung. Die Quantität der durch den Tierkörper verdrängten Flüssigkeit zeigte mir in Kubikcentimetern das Volumen des Tierkörpers. Da ich für die vorliegende Untersuchung der Zellgröße Darmepithelzellen gewählt habe, so schnitt ich bei jedem Tier Stücke vom Darm gleich beim Pylorus aus und untersuchte sie in der Weise, die ich schon im zweiten Abschnitt dieser Mitteilung dargelegt habe. Die Zellenmessungen habe ich mit dem Homog.-Immers.-System Zeiss $^{1}/_{18}$, mit Okularmikrometer 3, bei normaler Tubuslänge ausgeführt.

In jeder Zelle maß ich die Länge und Breite der Zelle, dann auch den großen und kleinen Durchmesser des Kernes. Bei jedem Tier sind 50 Messungen ausgeführt worden, so daß die Durchschnittszahlen aus 50 Messungen ausgerechnet wurden. Da ich nur prismatische, rechteckige Zellen gemessen habe, so konnte die Oberfläche der Zelle durch die Multiplikation der durchschnittlichen Länge der Zelle (in Mikra ausgedrückt)

Tabelle II.

Familie B.

N N der Versuchstiere			I nach 10 Tagen	II nach 1 Monat	III nach 2 Monaten	IV nach 3 Monaten	V nach 4 Monaten
Volumen in ccm.			4	10	12	21	24
Zelle	Länge in Mikr.	Durchschnitt	14,9	18,6	20,2	23,2	22,6
		Maximum	20	25	27	30	29
		Minimum	8	14	15	16	15
	Breite in Mikr.	Durchschnitt	4,7	4,7	5,1	4,5	4,2
		Maximum	7	6	7	5	6
		Minimum	4	3	4	3	3
Kern	Großer Durchm. in Mikr.	Durchschnitt	4,5	5,4	5,1	6,1	5,9
		Maximum	6	6	6	8	7
		Minimum	3	4	4	5	4
	Kleiner Durchm. in Mikr.	Durchschnitt	4	4,1	4,2	3,6	3,1
		Maximum	5	5	5	6	5
		Minimum	3	2	3	2	2
Oberfläche der Zelle			69,9	87,4	103	104,4	94,9
Oberfläche des Kernes			14,1	17,4	16,8	17,2	14,3
Kernzellrelation			4,9	5	6,1	6,1	6,6

mit deren durchschnittlicher Breite ermittelt werden. Die Form der Kerne war eine Ellipse; infolgedessen rechnete ich die Kernoberfläche mit Hilfe der Formel $\frac{\pi ab}{4}$ aus (a = durchschnittlicher großer Durchmesser des Kernes; b = durchschnittlicher kleiner Durchmesser des Kernes; $\pi = 3{,}14$). Die Relation zwischen Zelle und Kern habe ich nach Levi ermittelt, indem ich die Größe der Zelloberfläche durch die Größe der Kernoberfläche dividierte. Levi hat dieses Verhältnis als »Indice plasmatico-nucleare« bezeichnet. Ich nenne es Kernzellrelation, nicht

Kernplasmarelation, weil, so lange man von der Größe der Zelle die Größe des Kernes nicht abgezogen hat, von keiner Zellplasmarelation die Rede sein darf. In den drei folgenden Tabellen habe ich sämtliche Zellen- und Kernmessungen von dem Darmepithel zusammengestellt. Tabelle I gibt die Gesamtgröße der Tiere (in ccm), die Durchschnitts-, Maximum- und Minimumzahlen für die Dimensionen der Zellen und Kerne (in Mi-

Tabelle III.

Familie C.

N N der Versuchstiere			I nach 10 Tagen	II nach 1 Monat	III nach 2 Monaten
Volumen in ccm.			4	10	18
Zelle	Länge in Mikr.	Durchschnitt	14,6	21,1	21,9
		Maximum	17	30	27
		Minimum	11	15	15
	Breite in Mikr.	Durchschnitt	5.6	4,6	4,9
		Maximum	6	6	6
		Minimum	5	3	4
Kern	Großer Durchm. in Mikr.	Durchschnitt	5,2	5,9	6,4
		Maximum	7	8	8
		Minimum	4	3	5
	Kleiner Durchm. in Mikr.	Durchschnitt	4,7	3,9	4,3
		Maximum	5	6	6
		Minimum	3	2	2
Oberfläche der Zelle			81,7	97,1	107,3
Oberfläche des Kernes			16,7	18	21,6
Kernzellrelation			4,9	5,4	4,9

kra), die Oberflächen der Zellen und Kerne, und schließlich die Kernzellrelationen bei den Individuen der Familie A auf verschiedenen Altersstufen an. Tabelle II enthält die Resultate der Messungen bei der Familie B. Tabelle III stellt die bei der Familie C erzielten Ergebnisse dar.

Auf Grund der in den drei Tabellen zusammengestellten Zahlen komme ich zu folgenden Ergebnissen.

Mit der Zunahme des Alters ist eine Zunahme der Gesamtgröße der Versuchstiere zu bemerken; diese Zunahme ist bei allen drei Familien auf derselben Altersstufe ungefähr gleich.

Sehr auffallend ist die allmähliche Zunahme der durchschnittlichen Länge der Zelle. Die bei allen drei Familien erzielten Resultate stimmen in dieser Hinsicht vollständig überein. Wenn wir von den Bruchteilen absehen, so haben wir bei den Familien A und B auf den ersten drei Altersstufen genau die gleichen Zahlen.

Ganz anders verhält sich die durchschnittliche Breite der Zelle. Hier sind Schwankungen zu bemerken, die sogar für eine gewisse Verminderung der Zellbreite mit Zunahme der Körpergröße sprechen.

Beim Vergleich des durchschnittlichen großen Durchmessers des Kernes bei den allerjüngsten und alleráltesten Versuchstieren fällt eine Zunahme auf, obwohl auf den mittleren Altersstufen Schwankungen wahrzunehmen sind. Man muß also zugeben, daß sowohl der Kern, wie die Zelle sich mit der Größenzunahme des wachsenden Organismus verlängern.

Der durchschnittliche kleine Durchmesser des Kernes verhält sich ähnlich, wie die durchschnittliche Breite der Zelle. Die Variationen, die hier vorkommen, führen zu einer unbedeutenden Verminderung.

Bei Betrachtung der maximalen und minimalen Zahlen für die Länge der Zelle und den großen Durchmesser des Kernes fällt es auf, daß sie bei den allerjüngsten Tieren am kleinsten sind; auf keiner der weiteren Altersstufen kommen so niedrige Zahlen wieder vor.

Ziehen wir jetzt die Schwankungen in der Größe der Zell- und Kernoberflächen in Betracht, so werden wir erstens eine Zunahme dieser Zahlen bei den allerältesten Mäusen im Vergleich zu den allerjüngsten wahrnehmen, dann aber auch konstatieren, daß diese Zunahme viel regelmäßiger und größer bei den Zelloberflächen, als bei den Oberflächen der Kerne ist. Die Größe der Zelle scheint also in einem näheren Verhältnis zu der Gesamtgröße des wachsenden Organismus zu stehen, als die Kerngröße. Hier möchte ich an die Resultate der Experimente von Morpurgo (17) erinnern. Morpurgo fand, daß der Hunger viel bedeutender die Zellgröße, und zwar im Sinne einer Abnahme, als die Kerngröße beeinflußt. Infolge der größeren Zunahme der Zelloberfläche im Vergleich mit der Zunahme der Kernoberfläche wird die Kernzellrelation mit dem Wachstum des Organismus auf Kosten des Kernes allmählich in die Höhe verschoben. Dieses Verhalten kommt zum Ausdruck in den Familien A und B.

IV. Schlußfolgerungen.

Aus der soeben angeführten Zusammenstellung der Resultate schließe ich folgendes:

1. Mit der Zunahme der Gesamtgröße des wachsenden Organismus

ist eine Zunahme der Zellgröße, nämlich eine Verlängerung der Zelle und des Kernes zu bemerken.

2. Das Wachstum des Organismus wird also nicht nur durch die Vermehrung der Zellen, sondern auch durch die Zunahme der Zellgröße bedingt. Ich möchte in dieser Tatsache einen Beweis sehen gegen die Meinung, wonach die Zellgröße in jeder Tiergattung konstant sein soll.

Literaturverzeichnis.

1. Ameluing, Erich. Inaug.-Dissertation, Würzburg. München 1893. Antwort auf die Preisfrage: »Es sind zahlreiche Messungen anzustellen, welche Auskunft darüber geben, ob und inwiefern Beziehungen zwischen dem Volumen der Zellen und dem Volumen der Pflanzenorgane bestehen«.

2. Strasburger, Ed. Histologische Beiträge. Heft 5. Über das Saftsteigen. Über die Wirkungssphäre der Kerne und die Zellgröße. Jena 1893.

3. Rabl, Carl. Über den Bau und die Entwicklung der Linse. III. Teil. Die Linse der Säugetiere. Rückblick und Schluß. Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie. Bd. LXVII. 1900.

4. Driesch, Hans. Von der Beendigung morphogener Elementarprozesse. Arch. f. Entwicklungsmech. d. Organismen. Bd. VI. 1898. Leipzig.

—— Die Entwicklungsphysiologie von 1902—1905. Ergeb. d. Anat. und Entw. Bd. XV.

5. Conklin, E. G. Karyokinesis and Cytokinesis in the Maturation, Fertilization and Cleavage of Crepidula and other Gastropoda. Journ. of Acad. Nat. Sc., Philadelphia. Vol. XII.

6. Morgan, T. H. Relation bet. normal and abnorm. develop.of the embryo of the frog as determined by some abnorm forms of development. III. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. XVIII. Nach Chambers.

7. Levi, G. Studi sulla grandezza delle cellule. Archivio di Anatomia e di Embriologia. Firenze 1906.

8. Boveri, Th. Zellen-Studien. Heft 5. Über die Abhängigkeit der Kerngröße und Zellenzahl der Seeigel-Larven von der Chromosomenzahl der Ausgangszellen. Jena 1905.

9. Gerasimoff, J. Die Abhängigkeit der Größe der Zelle von der Menge der Kernmasse. Zeitschr. f. allgem. Phys. Bd. I.

10. Zur Strassen, Dr. O. L. Über die Riesenbildung bei Ascariseiern. Archiv für Entwicklungsmech. d. Organismen. Bd. VII. 1898. Leipzig.

11. Popoff, Methodi. Experimentelle Zellstudien. Arch. f. Zellforsch. Bd. I. 1908.

12. Chambers, Robert. Einfluß der Eigröße und der Temperatur auf das Wachstum und die Größe des Frosches und dessen Zellen. Arch. f. mikrosk. Anatomie und Entwicklungsgeschichte. Bd. LXXII. 1908.

13. Baum, H. Die morphologisch-histologischen Veränderungen in den ruhenden und tätigen Leberzellen. Deutsche Zeitschr. für Tiermedizin und vergl. Pathol. Bd. XII.

14. Gerlach. Handbuch der allgemeinen und speziellen Gewebelehre des menschlichen Körpers. Mainz 1898.

15. Illing, G. Vergleichende histologische Untersuchungen über die Leber der Haussäugetiere. Anat. Anzeiger, herausg. von Bardeleben. Bd. XXVI. Jena. 1905.

16. Cohnstein, J. und Zuntz, N. Untersuchungen über das Blut, den Kreislauf und die Atmung beim Säugetierfötus. Pflügers Arch. d. gesamten Physiologie. Bd. XXXIV.

17. Morpurgo. Sur la nature des atrophies par inanition chez les animaux à sang chaud. Arch. ital. d. Biol. T. XII. Nach Chambers.

On the Effect of Centrifugal Force on the Frog's Egg.

By

J. F. McClendon

(From the Histological Laboratory of Cornell University Medical College, New York City, U.S.A.)

With 9 figures in the text.

The centrifuge has become a popular piece of apparatus for the analysis of the structure and developmental processes in the animal egg. The results thus obtained are very interesting, but the interpretation of these results have been divergent in some cases. Therefore it may be of interest to consider certain facts that have a bearing on the disputed points.

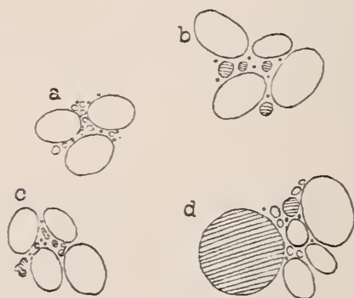
On the Cytoplasmic Structure.

In a recent paper, Gurwitsch (09) maintains that centrifugal force destroys the alveolar structure of the frog's egg by separating the contents of the alveoles, enchylemma, as a layer at the animal pole, from the substance forming the walls of the alveoles, hyaloplasm, which then forms a layer just below the enchylemma. Gurwitsch had reported the observation before the Anatomische Gesellschaft at Jena in 1904, and similar results were published by Konopacka (08), with this difference that Gurwitsch, following the alveolar theory of Butschli, called the substance that rises to the top of the egg enchylemma, whereas Konopacka, adhering to the reticular theory of Leydig used the term hyaloplasm to denote the same substance. In order to throw light on the question whether the alveolar structure is destroyed by centrifugal force I have made a study of the cytoplasm of the normal egg.

A small portion of a thin smear of the living ovarian egg of *Rana pipiens* is shown in fig. 1a. The large ovals represent yolk-platelets, the black dots pigment, and the small circles represent spheres of a sub-

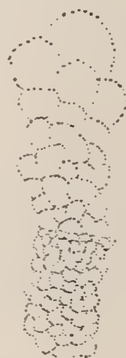
stance that can hardly be differentiated in the living egg from the substance of the yolk-platelets. Fig. 1b shows these bodies in an egg fixed in osmic acid. The small circles are here striated to denote that they represent bodies that take the characteristic osmic impregnation for fat. There is some difference in the size of these fat droplets in the living cytoplasm and the osmicated section, but none of them in either preparation are as large as the yolk-platelets. If a smear of the living egg be fixed in osmic acid and immediately examined. some of the fat droplets are seen in the act of fusing to form larger drops, fig. 1c. By treating a smear

Fig. 1.



Cytoplasma of ripe ovarian egg of *Rana pipiens*; a. living egg burst under cover-glass; b. section fixed in osmic; c. fresh smear fixed in formaldehyde vapor and stained in alcoholic solution of Sudan III. The large ovals are yolk-platelets; the black dots pigment and the striated bodies gave the reaction for fat; the small circles in a. represent fat, this is also true of the small circles in d. which represent fat droplets which are too small to show a perceptible intensity of stain.

Fig. 2.



Juncture of the fatty layer (above) and protoplasmic layer (below) in the cytoplasm of the egg of *Chorophilus triseriatus* centrifuged in the four-cell stage, centrifugal force = 2771 × gravity for seven minutes.

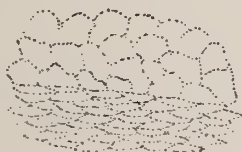
of the living egg, fixed for a few seconds in formaldehyde vapor, with an alcoholic solution of Sudan III, the fat droplets are stained, but they vary much more in size than in any of the above preparations, some of them being larger than the yolk-platelets, fig. 1d. I attribute this variation in size of the fat droplets in different preparations to the fusion of the original droplets to form larger drops, a process which is due to the rubbing of the smears or to the addition of substances which reduce the surface tension of the droplets. This last point is illustrated by the fact that if the osmicated smear be treated with the alcoholic solution of Sudan III, the fat droplets may be seen to fuse and form larger drops.

By chemical analysis I found (09, 1 and 3) the pigment granules to be composed of a melanin containig 0,6% of sulphur and 9% of nitrogen;

the yolk-platelets to be composed of 6% of lecithin and 94% of batrachiolin, a nucleo-albumin containing 1,2% of phosphorus, 1,3% of sulphur and 15% of nitrogen; and the fat droplets to be composed of a liquid fat, a solid fat melting at 58 degrees, and a yellow lipochrome.

In the living frog's egg, I have not been able to observe any structure to the cytoplasm proper, that is, to the substance that fills the spaces between the yolk-platelets, fat droplets, and pigment granules. GURWITSCH (09) supposed an alveolar structure to exist, but which was obscured by the yolk-platelets. I examined younger ovarian eggs, containing no yolk, fat or pigment, alive under a 2 mm oil immersion lens and could observe no structure in the cytoplasm except clumps of granules in certain regions, the yolk-nuclei. In a former paper (09, 1) in speaking

Fig. 3.



The same structure as in fig. 2, in the ovarian egg of the toad, centrifugal force = 2771 × gravity for two hours. The greater viscosity of the ovarian egg necessitated a longer duration of the force to obtain the same stratification.

Fig. 4.



Portions of cytoplasm in sections of ovarian eggs of *Rana pipiens* containing no yolk.

of the alveolar structure of the normal frog's egg, I referred to the spaces filled with yolk-platelets and fat droplets and containing in addition enchylemma, as I supposed. It is hardly probable that spaces entirely occupied by yolk or fat can be rightly called alveoles in BUTSCHLI's sense.

If the frog's egg be centrifuged, I observed (09,1) that the fat droplets rise to the top of the egg and fuse to form larger drops, whereas the cytoplasm proper forms a layer just beneath the layer of fat drops. A small portion of a section showing a part of each of these two layers is represented in fig. 2. Each layer has an alveolar or reticular appearence, the meshes in the fatty layer being larger than those in the layer below, which GURWITSCH calls artefacts. The meshes in the fatty layer are formed of the coagulated cytoplasm that separated the fat drops until the latter were dissolved out with xylol. The meshes in the layer below are probably artefacts as GURWITSCH maintains, but they are about as large as the meshes seen in the cytoplasm of fixed ovarian eggs contai-

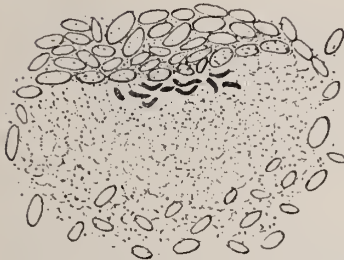
ning no yolk, fig. 4, and if all these are artefacts, the assertion that an alveolar structure in Butschli's sense exists in the cytoplasm of the frog's egg is not based on optical evidence (cf. Rhumbler). The fact remains that the spaces which Gurwitsch supposed to be filled with enchylemma in the centrifuged frog's egg are in reality filled with fat droplets, and the process which he describes as a destruction of the alveolar structure is in reality an aggregation of the fat droplets. Whether the process which Gurwitsch describes as a restitution of the alveolar structure, which occurs in eggs after they have been removed from the centrifuge, is a redistribution of the fat droplets, I cannot positively affirm, as I have not determined that the fat droplets are ever uniformly redistributed, neither do Konopacka's figs. 12 and 14, Pl. XXVI indicate such a process, and although on p. 772 she states that the vacuolated layer seen in centrifuged eggs disappears soon after the eggs are removed from the centrifuge, she adds that the stratified arrangement of substances persists during the entire development of the eggs.

On the Cause of the Abnormal Development of Centrifuged Eggs.

Gurwitsch assumes that the abnormal development of centrifuged frog's eggs is due to the failure of the nuclei to fit the portions of the cytoplasm which surround them. This he attributes to the meniscus formation, which did not occur in my experiments. The question arises whether such an assumption is necessary to explain the facts. I concluded (09, 1) that the physical and chemical differences between the layers of the egg were sufficient to account for the abnormal development, and found that if the centrifugal force was sufficiently prolonged (2771 × gravity for 20 minutes) not even the beginning of segmentation ever occured. Gurwitsch maintains that similar explanations are invalidated by the fact that sometimes a portion of one layer will segment while the remainder of the layer is unsegmented, that is to say that the injury to the egg is independent of the stratification. It should be remembered that frog's eggs are easily injured by handling, and that centrifugal force not only stratifies the egg, but causes currents in the egg and presses the eggs one against the other The currents in the egg are indicated by the streaming of the black pigment observed by Morgan and myself. Pfluger observed that if the frog's egg be inverted, the small cells appear in the white hemisphere, and Born demonstrated this to be accompanied by an inversion of the egg contents. It has been proved that the polarity of the frog's egg is determined by the arrangement of egg substance, either deutoplasm or protoplasm proper. The nearly

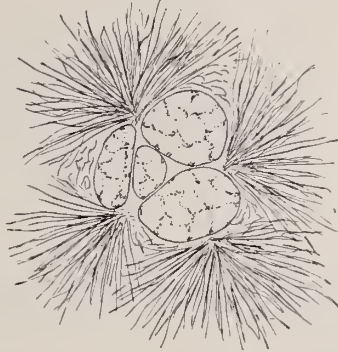
normal development of certain centrifuged eggs has been used as an argument for the position that the deutoplasm moved by the centrifuge has little or no effect on polarity. If this be true the polarity is determi-

Fig. 5.



Section through the equator of a mitotic figure in an egg of *Rana pipiens* that was centrifuged in the two cell stage, centrifugal force = 2771 × gravity for one minute. The yolk platelets and pigment granules, in being precipitated, were stopped by the spindle and piled up on it.

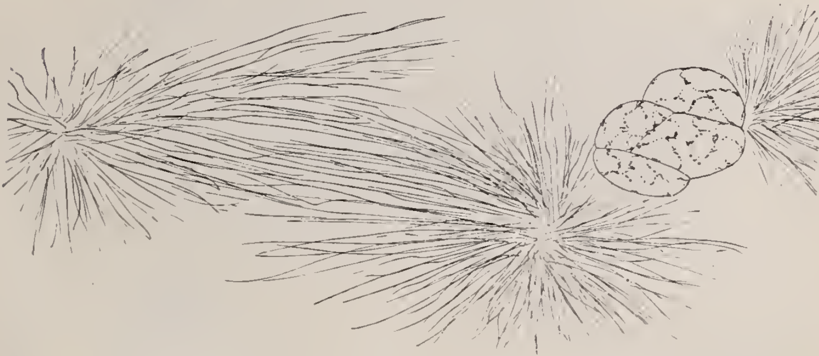
Fig. 6.



Group of chromosomal vesicles surrounded by four asters in a horizontal section of the egg of *Chorophilus triseriatus* that was placed in the centrifuge in the four cell stage, centrifugal force = 565 × gravity for 45 minutes.

ned by the protoplasm. If the polarity be determined by the cytoplasm alone, currents might destroy the relation of the polar axes of various

Fig. 7.



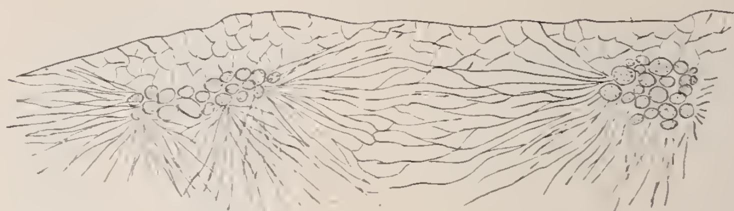
From a section of the same egg shown in fig. 6, showing a nucleus, one of whose asters has apparently divided and one of the products of the division has moved away.

regions to one another, just as would be the case if a magnet were melted and its substance stirred.

Another cause for the abnormal development of centrifuged frog's eggs might be abnormalities in the mitotic figures. I have previously

described (09, 1) the flattening of the mitotic figures in the direction of the centrifugal force. In some cases the yolk and pigment is piled up upon the spindle, as shown in fig. 5, which represents a cross section of the spindle containing the equatorial plate. The longer the eggs remain in the centri-

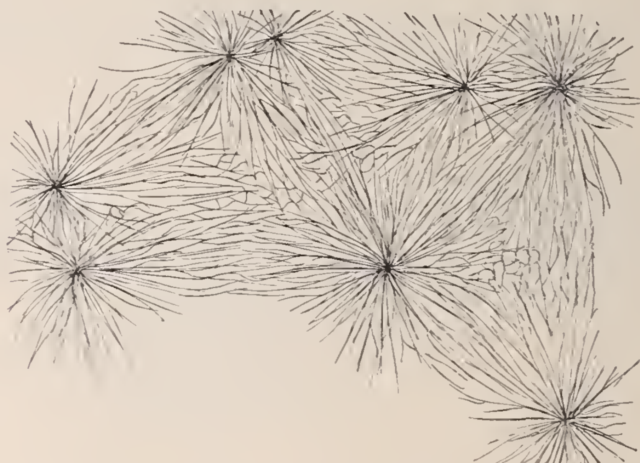
Fig. 8.



Two gronps of chromosomal vesicles, abnormal or incipient nuclei, indicating division of nuclei without cytoplasmic division, in an oblique section very near the animal pole of an egg of *Rana pipiens* that was placed in the centrifnge in the eight cell stage, centrifugal force = 565 × gravity for 4½ hours.

fuge the greater the abnormalities in the mitotic figures. Supernumerary asters appear, that are probably the products of the division of the asters of the mitotic figures. Fig. 6 represents the chromosomal vesicles sur-

Fig. 9.



From a section lower down, in the egg shown in fig. 8, representing numerous asters in division and far removed from any chromatin.

rounded by four asters in an egg centrifuged 45 minutes. Fig. 7, from the same egg, represents a nucleus with two asters, but nearby is a third aster which is apparently a product of the division of one of the asters connected with the nucleus. Fig. 8 shows two masses of chromosomal

vesicles surrounded by numerous astral radiations in an egg centrifuged one and a half hours. Fig. 9, from a region of the same egg further removed from the animal pole, represents numerous asters apparently in the act of division and not connected with chromosomes or nuclei. During the action of the centrifuge the nuclei remain very near the animal pole, though mitotic figures and supernumerary asters may be found a little further down in the egg. If the centrifugal force is sufficiently strong, division of the nuclei without division of the cytoplasm occurs, which may or may not be followed by division of the cytoplasm after the eggs are removed from the centrifuge. Just what effect these abnormalities in the process of mitosis have on the development of the embryo, I cannot determine, but it is probable that they are partly responsible for the abnormalities in development.

In conclusion to this section, it seems probable that the abnormal development of centrifuged frog's eggs may be due to one of a number of causes or to a combination of causes. Currents in the egg may be partly responsible for its abnormal development, which possibility is rendered more probable by the fact that the egg of *Arbacia*, in which centrifugal force does not produce currents, is little effected in its development thereby, however I have given other reasons for this difference (09, 2).

On the Effect of Centrifugal Force on the Egg at Different Stages of its Development.

It has been recorded by several observers that the degree of the effect of centrifugal force on the frog's egg at different periods of its development is different. Konopacka studied this subject systematically, and found that the ratio of abnormal to normal embryos resulting, increased markedly when the force was applied after the entrance of the spermatozoan, and that there was a second period of increase of this ratio when the force was applied just before the completion of the third cleavage, after which the ratio decreased again. Without knowing of Konopacka's results, in the spring of 1908, I performed similar experiments, which might be of interest since the centrifugal force was greater and acted for a shorter time (1 minute) and the results were denoted by the character of the most perfect embryos. The eggs of *Rana pipiens* laid by one female were divided into lots, and at the end of each ten minute period one lot was centrifuged with a force equal to 2771 × gravity for one minute. Part of each lot was then preserved for sectioning and the remainder placed in a dish of tap water to await depelopment. The highest developmental stages reached by the eggs of the various lots

were classified as normal tadpoles (except in coloration), abnormal tadpoles, partial embryos and irregular cleavage stages. In the list below, the numbers refer to the succession of ten minute periods:

1 normal tadpoles
2 » »
3 » »
4 » »
5 abnormal tadpoles
6 » »
7 » »
8 » »
9 » »
10 » »
11 irregular cleavage (♀ pro-nucleus seen in sections)
12 » »
13 normal tadpoles
Commencement of first cleavage furrow
14 normal tadpoles
15 irregular cleavage
16 normal tadpoles
17 partial embryos
18 normal tadpoles
19 » »
Commencement of second cleavage furrow
20 normal tadpoles
21 partial embryos
22 » »
23 » »
Commencement of third cleavage furrow
24 abnormal embryos
25 irregular cleavage.

In a second set of experiments, lots corresponding to lots 20—25 in the above list all gave partial embryos as the best results. Although the results are not quite uniform, it appears that the early stages after the eggs are laid, as indicated by the first ten lots, are less affected by centrifugal force than later stages. I attribute this to the fact that the egg is more viscid in early stages and consequently the stratification of substances and production of currents is less than in later stages. Thus I found that the time required to stratify the ripe ovarian egg by means of a given centrifugal force to be much greater than that required during

early cleavage. The same is true for the ovarian egg of the toad, fig. 3. With closely consecutive stages it is much more difficult to make quantitative comparisons.

Biataszewicz found that the frog's egg increased in volume progressively after it was placed in water (except while the perivitelline space was forming) and that this occured whether it were fertilized or not. In this connection might be mentioned the fact recorded by Backman and Rundström that the osmotic pressure of the frog's egg drops from that of frog's serum to that of pond water from the time it leaves the ovary to the first cleavage. This decrease in osmotic pressure is probably due to absorption of water, although Backman and Rundström interpret it differently. This absorption of water, and the mixing of the contents of the germinal vesicle with the cytoplasm, accounts for the decrease in viscosity of the egg after it leaves the ovary.

Literature.

Backman and Rundström, 1909. Physikalisch-chemische Faktoren bei der Embryonalentwicklung. Biochem. Zeitschr. XXII, S. 590

Biataszewicz, 1908. Beiträge zur Kenntnis der Wachstumsvorgänge bei Amphibienembryonen. Bull. de l'Acad. des Sc. Cracovie, Math.-Nat., Okt.

Gurwitsch, 1909. Über Prämissen und anstoßgebende Faktoren der Furchung und Zellvermehrung. Arch. Zellforschung, II, S. 495.

Konopacka, 1908. Die Gestaltungsvorgänge der in verschiedenen Entwicklungsstadien zentrifugierten Froschkeime. Bull. de l'Acad. des Sc. de Cracovie, Math.-Nat. Juli, S. 689.

McClendon, 1909. Cytological and Chemical Studies of Centrifuged Frog's Eggs. Arch. f. Entwicklungsmech. XXVII, S. 247.

—— Chemical Studies on the Effects of Centrifugal Force on the Eggs of the Sea Urchin. Am. Journ. Physiol., XXIII, p. 460.

—— On the Nucleo-albumin in the Yolk-platelets of the Frog's Egg, with a Note on the Black Pigment. Ibid., XXV, p. 195.

Morgan, 1906. The Influence of a Strong Centrifugal Force on the Frog's Egg. Arch. f. Entwicklungsmech. XXII.

Rhumbler, 1900. Physikalische Analyse von Lebenserscheinungen der Zelle, III. Ibid. IX, S. 63.

The Relation of Nucleoli to Chromosomes in the Egg of Cribrella Sanguineolenta Lütken.

By

H. E. Jordan,

Associate Prof. of Anatomy. University of Virginia, U.S.A.

With 9 figures in the text.

The special interest in this egg is enhanced by reason of a close general resemblance to that of *Echinaster crassispina*, previously described[1]), coincident with striking differences in details.

The two examples of the Echinasteridae here mentioned, in contrast with most Asteroidae, do not have free-swimming young. The eggs, always few in number, are collected on the adoral surface where they develop as described by M. Sars[2]), under the shelter of the arms. The latter simply bend round over the brood, forming a temporary chamber. In both species the eggs are of remarkable size and contain large eccentric nuclei. The finely granular cytoplasm is packed with large clear alveoli probably filled with attenuated yolk. The cytoplasm appears identical with that figured for *Echinaster*.

The material upon which the following description is based consists of a number of ovaries collected at the South Harpswell Laboratory during the summer of 1908, and a half dozen free eggs taken from the „brood-chamber“ of the same species found at Newport, R. I., kindly given to me by Professor John H. Gerould of Dartmouth College[3]).

---

[1]) Jordan, H. E. The Germinal Spot in Echinoderm Eggs (Papers Tortugas Lab. Vol. I). Carnegie Instn. Washington, Pub. 102. 1908.

[2]) Sars, M. Über die Entwicklung der Seesterne. Arch. Naturg. Jahrg. X. Bd. 1. 1844.

[3]) I am further indebted to Prof. Gerould for valuable suggestions regarding the procuring of material.

This description can embrace only the prematuration stages of the growing oöcyte since even the eggs taken from the chamber (except one in the two-cell stage) had not yet formed their polocytes. From the standpoint of nuclear phenomena no significant changes had occured since leaving the ovary. This observation would seem to indicate that fertilization and maturation take place in the „brood-chamber“.

Fig. 1

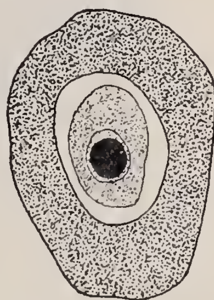


Primary oöcyte of *Cribrella* at the beginning of the growth period. Diameter of nucleus, 12 microns. After staining with the hematoxylin-eosin combination the granular cytoplasm appears purple, the nucleus pink and the nucleolus black. × 400.

The ovarian material was preserved in the corrosive-acetic mixture. The stains employed were Heidenhain's iron-hematoxylin with eosin as a counterstain, Auerbach's methyl green- acid fuchsin combination and thionin. The three stains gave absolutely consistent results.

The youngest oöcytes (fig. 1) studied contain a comparatively large clear nucleus (dia. 12 microns) with an intensely chromatic (green in Auerbach's stain) nucleolus. The cytoplasm is of the granulo-reticular type and stains a dark blue in the iron-hematoxylin eosin combination. In successively later stages the nucleolus enlarges considerably (figs. 2 and 4). The nucleus also grows in size and, while remaining finely granular (almost homogeneous), changes from an achromatic to a slightly chromatic (blue in iron-hematoxylin) condition. In Auerbach's preparations it simply becomes more deeply red. The increasing amount of cytoplasm changes to a large alveolar type, acidophile in staining reaction.

Fig. 2.



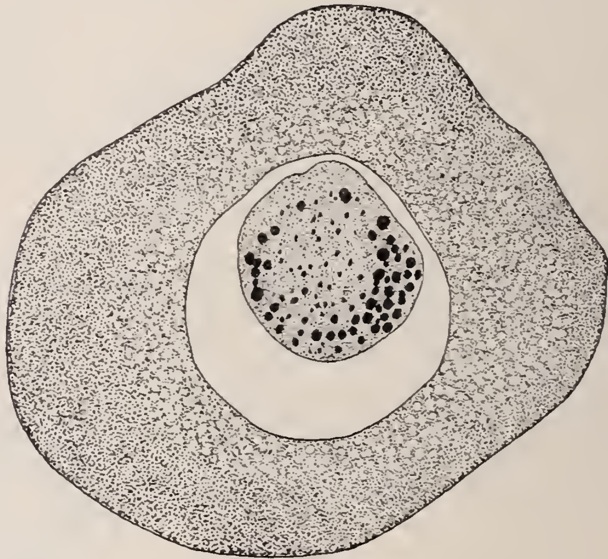
Later stage of the growing oöcyte. The space about the nucleus is a fixation artifact. The granulo-reticular cytoplasm stains dark blue, the finely granular or homogeneous nucleolus red and the nucleolus black. A light pink zone envelops the nucleolus. × 400.

The point of primary interest however concerns the relationship between nucleoli and chromosomes. In the very earliest growth stages numerous secondary chromatic nucleoli begin to appear. They increase in number and may aggregate a hundred or more (fig. 3.) They vary considerably in size but stain intensely (green in Auerbach's stain) until the final ovarian stage. They take origin from the primary nucleolus as smaller or larger chromatic spherules (fluid drops) which possibly continue to grow somewhat as they scatter through the

nucleus. Their number is so large, however, that it is impossible to decide definitely concerning their growth, nor is it possible to prove that some may not arise de novo in the nucleus, though this seems improbable.

During earlier stages the primary nucleolus enlarges in spite of its contribution of secondary nucleoli, but in later stages it has usually entirely disappeared. The final stages in its disintegration are marked by

Fig. 3.



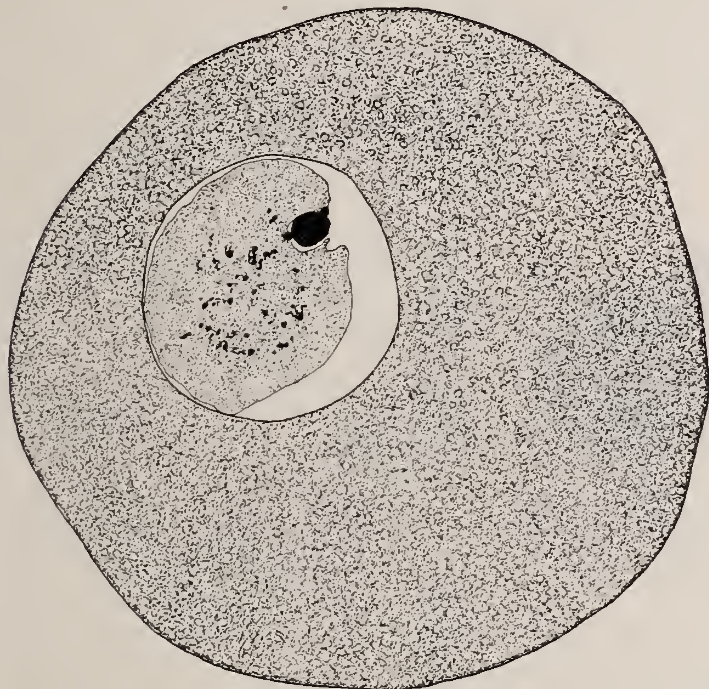
Still later stage in the growth period showing the dispersion of the nucleolar buds (accessory nucleoli). The latter (black) lie scattered, more densely peripherally, throughout the pale purple nucleus. Fixation has produced a wide contraction artifact. The cytoplasm is beginning to change centrally from the granulo-reticular to the alveolar type and stains a brownish pink. × 400.

a shrivelled appearance of its surface and a loss of basophile staining reaction of its central portion. As such it may persist to the last, its final dissolution being accomplished by fragmentation. Occasionally, however, the primary nucleolus appears to remain spheric and chromatic to the last, its ultimate remnant becoming indistinguishable from the secondary nucleoli.

The important point of difference between *Cribrella* and *Echinaster* in respect to the origin of secondary (accessory) nucleoli is that in the former they arise from the primary (chief) nucleolus by a process of extrusion of chromatic spherules, in the latter by fragmentation. In the

former case a nucleolar remnant frequently persists for a longer or shorter time, in the latter no remnant is left. Moreover, in *Cribrella* these nucleolar buds are spheric whereas in *Echinaster* the originally spheric fragments become four-lobed or quadripartite bodies. The striking structural similarity of the latter to tetrads seemed to indicate that they might

Fig. 4.



Oöcyte near the culmination of the growth period showing the disposition of the nucleolar buds and the forming chromosomes (beaded threads) in the finely grannlar nucleus. Two bnds (secondary or accessory nncleoli) are seen in process of extrusion from the primary (chief) nncleolns. Stain, iron-hematoxylin. The alveolar cytoplasm appears gray, the nnclens pale blue and the nncleoli and chromosomes black (green in Auerbach's stain). × 140.

be chromosomes, an interpretation which appears the less warranted in the light of what may be learned from *Cribrella*. However, the fact that they cannot themselves be proved chromosomes does not in any way invalidate the conclusion that the chromatic substance of the chromosomes comes from these bodies and thus in the last analysis from the primary nucleolus.

Very interesting is the fact of a generic difference between the eggs of *Cribrella* and *Echinaster*, in other respects very similar, as seen in the

peculiar shape of the products of nucleolar dissolution: spheric in the former, four lobed in the latter; and the difference in the process of their formation.

Compared with *Asterias forbesii*, previously described[1]), the nucleoli of *Cribrella* and *Echinaster* show an interesting contrast. In *Asterias* the nucleoli are compound structures consisting of a plastin and a chromatin component; in *Cribrella* and *Echinaster* they appear wholly chromatic. The lightly staining central portion of the persisting chief nucleolus of *Cribrella* in later stages is more probably transformed chromatin. The reverse of this process is seen in the pronuclei of *Asterias* which are originally plasmatic but may become chromatic. Evidence from staining reaction indicates in these several cases a close physiologic relationship between the plasmatic and chromatic constituents of the nucleus. R. Hertwig's[2]) position that „. . . between plastin- and chromatin-nucleoli no sharp boundary exists“, and that „. . . between both forms of nucleoli transitions appear, and one can arise from the other“ (p. 714), receives support from the nucleolar changes seen in *Asterias* and *Cribrella*.

Fig. 5.



Chief nucleolus emitting one large (secondary) and two small (tertiary) nucleoli. This structure stains black in iron-hematoxylin and green in Auerbach's stain. × 800.

When the egg is about $^1/_3$ grown a number of beaded threads appear in the nucleus. Under low magnification they remind one of the mossy chromosomes of the amphibian egg; indeed, so does the entire nucleus with its many nucleoli, usually more abundant peripherally (fig. 3). These threads are always close, and frequently attached. to a nucleolus. Very many of the nucleoli are seen to emit a small spherule about the size of a bead in the thread (figs. 5, 6, 7, 8, and 9). The nucleoli grow progressively smaller and less in number, and in the latest ovarian stages have almost disappeared. The eggs taken from the „brood-chambers“ show very few or none at all.

The beaded threads here are undoubtedly the chromosomes, as they

---

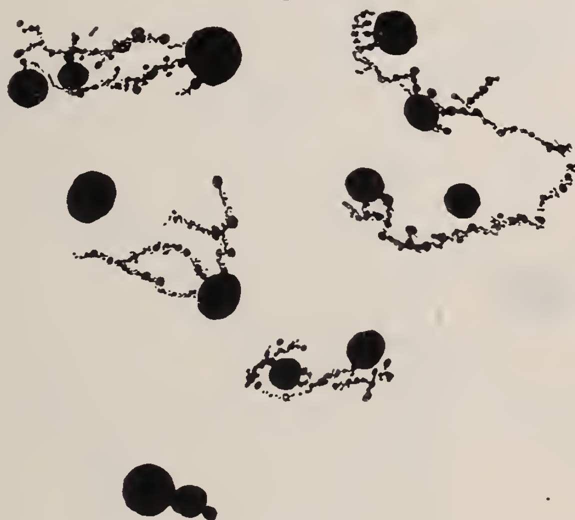
[1]) Jordan, H. E. The Relation of the Nucleolus to the Chromosomes in the Primary Oöcyte of *Asterias forbesii* (Papers Tortugas Lab. Vol. 1.) Carnegie Instn. Washington, Pub. 102. 1908.

[2]) Hertwig, R. Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von *Actinosphaerium eichhorni*. Abhandl. K. bayer. Akad. Wiss., Kl. II, Bd. 19, Abt. III, 1988.

may also be in *Echinaster*, as previously noted and alternatively interpreted. In the absence of actual maturation stages nothing more can be said regarding the number and shape of the chromosomes in either form. However, at the height of the growth period they exist as beaded threads apparently few in number.

In *Cribrella* the chromosomes, as far as their chromatin substance is concerned, seem to arise from the nucleolus by a process of budding and dispersion — the single primary nucleolus giving rise to secondary

Fig. 6.



More highly magnified regiou of illustratiou uumber 4, showing the relatioaship betweeu the several gradatious of nucleoli aud the chromosomes. The smallest uucleolar buds are approximately of the size of the spheric granules of the chromosomes. ln iron-hematoxylin material the uucleoli aud spheric granules of the chromosomes are intensely black; in the material stained with the Auerbach's mixture these structures are green, and the grauules (chromomeres) of the chromosomes are eumeshed iu a red-stainiug underlyiug uetwork of delicate mossy threads. × 1500.

nucleoli (figs. 4 and 5) and these in turn to tertiary and so on (figs. 6, 7, 8 and 9) — the final products combining and aligning themselves to form the beaded thread-like chromosomes. In Auerbach's stain the spheric granules (chromomeres?) of the chromosomes stain green, and they appear enmeshed in an underlying red-stainig network of plasmatic (linin?) threads.

The nucleoli, then, disappear, at least for the most part, before the dissolution of the nuclear wall. The evidence here is strongly in favor of the nucleolar origin of the chromosomes, and in opposition to the hypothesis of their morphologic individuality.

The most important question here concerns the true relation of the nucleoli to the chromosomes. Careful observation reveals three cardinal facts: 1) origin of smaller from larger chromatic nucleoli; 2) close spatial relationship of chromosomes to nucleoli, frequently direct contact; 3) correspondence in size between smallest nucleoli (products of nucleolar budding) and the constituent granules (chromomeres?) of the chromosomes.

It must be emphasized, however, that not all of the nucleolar substance can be thought of as passing into the chromosomes. Here, as in the prematuration stages of many eggs (e. g., *Asterias forbesii*), there is suggested a condition of binuclearity in the sense that a portion of the chromatic constituents of the nucleus passes into chromosomes and clearly indicates its reproductive nature, while a portion is resorbed by cytoplasm (vegetative nature?). An alternative interpretation might regard all chromatin as nutritive; for the facts above outlined do not unequivocally indicate whether the nucleolar chromatin simply contributes material to the chromosomes or whether it actually constructs them.

Fig. 7.

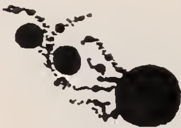


Illustration from another egg to show how the chromosomes appear to arise by a process of alignment of nucleolar buds. × 1500.

That the nucleolus is simply a store-house of material for supplying nutriment to the chromatin has been urged hy FLEMMING[1]), BAMBEKE[2]), KORSCHELT[3]), and more recently by LUBOSCH[4]). Where the nucleolus itself is chromatic and chemically (according to staining reaction) indistinguishable from the chromatin of the chromosomes, and where the former contributes to the formation of the latter as in *Asterias*, *Cribrella*, *Echinaster*, and many other forms, the chromatin may perhaps in part at least be thought of as nutritive.

In a recent paper SHEPPARD[5]) has reported some very interesting

---

1) FLEMMING, W. Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. Leipzig, C. F. W. Vogel. 1882.

2) BAMBEKE, C. VAN. Etat actuel de nos connaissances sur la structure du noyau cellulaire à l'état de repos. Ann. Soc. de Méd., Gand. 1885.

3) KORSCHELT, E. Über Kernteilung, Eireifung und Befruchtung bei *Ophryotrocha puerilis*. Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 54. 1895.

4) LUBOSCH, W., Über die Eireifung der Metozoen usw. Merkel u. Bonnet, Ergebnisse der Anat. u. Entwickl. Vol. 11. 1902.

5) SHEPPARD, E. J. The Disappearance of the Nucleolus in Mitosis. Journ. Royal Micr. Soc Oktober 1909 p. 551.

facts bearing on this matter in the dividing cells of the growing roots of *Hyacinthus* and *Allium* and in those of epidermis of the tadpole. The delicate observations were possible only as the result of a faultless technic. The essential facts are these: a) The nucleoli of quiescent cells stain densely (in iron-hematoxylin or thionin) and stand out clearly from the less con-

Fig. 8. Fig. 9.



Illnstration from a third egg to show extremely long chromosomes. In every instance they assume an intimate spatial relationship with the nucleoli. In Auerbach's stain the chromosomes show a compound structure of a red-staining ground substance (linin?) onto which are placed the green spheric granules (chromomeres?). × 1500. Fig. 9. Illustration of a region of another egg to show especially the smaller nucleolar buds. The chromosomes are similar to those above described, and show the same intimate relationship to the nucleoli. × 1500.

spicuous chromatic granules and linin network. b) At the beginning of the spireme stage the nucleoli take the stain less deeply in the central portion. c) During later spireme stages, the staining power of the entire nucleolus diminishes and signs of fragmentation appear at the periphery. d) There is an intimate association of the chromatin thread with the nucleoli of this stage. e) During late spireme stages the nucleoli contract

considerably, their outline becoming very irregular and distorted and in places having pseudopodia-like projections. f) A delicate faintly-staining bridge spans the interval between these processes and the chromatin thread. Sheppard concludes that, „It may be not at all unlikely that by these processes . . . the nucleoli are drawn into the nuclear thread". The association between the granular nucleoli and the nuclear thread is so intimate and the final disappearance of the former is in such a manner, „that one is led to believe that it is taken up or entirely absorbed by the latter". (p. 553).

A somewhat similar chromatic bridge has been described between the prematuration chromosomes and the nucleolus in *Asterias forbesii*[1]). Again, in *Cribrella* there is a very intimate relationship between chromosomes and nucleoli as above described. And the same is true of a number of other and widely different animal forms.

Here may be mentioned especially *Tubularia Crocea* recently described by Hargitt[2]). As in *Cribrella* and *Echinaster* the chief nucleolus in *Tubularia* fragments into secondary structures some of which „may dissolve in the nuclear sap; others are added to the nuclear reticulum and are apparently transformed into chromatin" (p. 198). Hargitt thinks it possible that, in view of the disappearance of the nucleolus and the formation of the chromosomes prior to the dissolution of the nuclear membrane, „the nucleolus may contain something necessary for the formation of the chromosomes" (p. 206). The nucleolar fragments figured for *Tubularia* in illustrations no. 45 and 46 resemble very closely similar structures previously figured for *Echinaster* (textfigure 6)[3]) and to some extent also those here described for *Cribrella*, and in the three instances, possibly in very similar manner, contribute to the formation of the prematuration chromosomes.

Comes[4]) describes very similar phenomena in *Serranus scriba* (seabass). Here the chromatin nucleoli of the growing oöcyte fragment. The larger products remain scattered peripherally in the germinal vesicle. From the smaller fragments (Körnchen) the chromosomes arise.

From Bigelow's[5]) description of the „nuclear cycle of *Gonionemus*"

---

1) Jordan, H. E. op. cit.

2) Hargitt, G. T. Maturation, Fertilization and Segmentation of *Pennaria Tiarella* (Ayres) and of *Tubularia Crocea* (Ag.). Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard Coll. 1909.

3) Jordan, H. E. op. cit.

4) Comes, Salv. Sulle relazioni tra vesicola germinative ed ooplasma nell' oocite di *Serranus scriba* (Cuv.). Anat. Anz. Bd. 28. S. 17—24, 83—96.

5) Bigelow, H. B. Studies on the Nuclear Cycle of *Gonionemus murbachii*. A. G. Mayer. Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard Coll. 1907.

one gathers the impression of a like close relationship between the nuclcoli and chromosomes. In somatic mitosis the chromatic nucleolar shell is said to break down „and contribute its substance to the chromatic structures“ (p. 379). — Likewise in the spermatogonial and spermatocyte mitoses (nucleolus here a „purely chromatin structure“), „the chromatin contributes to the formation of the chromatin net“ (p. 380) . . . „which instead of being metamorphosed into a continuous spireme thread, probably segments into twenty-four chromatin masses“ (chromosomes). And the oögonial mitoses are said to be of the ordinary somatic type.

The maturation mitoses, however, appear to differ in the matter of chromosome formation from the prevailing condition for *Gonionemus*. In the early prophase stages of the primary oöcytes, the chromatic „nucleolar shell breakes down and contributes to the chromatin reticulum. The chromatin then condenses into separate ‚beaded‘ segments formed by the union of varying number of karyosomes. . . . The chromatin segments then become irregular and break down and the nucleus . . . returns to a ‚resting‘ condition „in which the chromatin is diffused. The central portion of the nucleolus persists and develops into the chief nucleolus of the growth period of the oöcyte“ (p. 382). In the face of the above facts Bigelow asserts that the chief nucleolus „takes no part in the formation of the chromatin strands“ (p. 382) and thus the chromosomes. Moreover, he knows „. . . no conclusive evidence that the chief nucleolus in invertebrates ever normally contributes to the formation of the chromosomes of the first cleavage spindle“ (p. 367). Such evidence I believe appears in the case of *Cunina* Stschelkanowzew)[1]), *Asterias*, *Echinaster* and *Cribrella* (Jordan)[2]) and in *Tubularia* (Hargitt)[3]).

And indeed in the case of *Gonionemus* it appears more in accordance with the facts described to think of the maturation chromosomes as arising in part from the nucleolus. For did not the earlier nucleolus contribute its shell to the chromatin reticulum from which the chromosomes subsequently arise? The so-called „chief nucleolus“ of the full grown oöcytes would seem to be more correctly interpreted as the remnant (superabundant chromatin) of an original nucleolus whose partial function was to contribute some substance to chromosomes. Such interpretation would bring the maturation mitosis as regards the nucleolar-chromosome-relationship into harmony with what Bigelow himself de-

[1]) Stschelkanowzew, J. Die Entstehung von *Cunina proboscidea* Metschn. Mitteil. Zool. Stat. Neap., Bd. 17. 1906.

[2]) Jordan, H. E. op. cit.

[3]) Hargitt, G. T. op. cit.

scribes as the type for spermatogenetic and somatic mitoses. It is very difficult to imagine a reason for so fundamental a difference as BIGELOW believes to obtain between the spermatocyte and oöcyte mitoses in the same animal form. Moreover, in the final stage of the oöcyte studied and figured by BIGELOW the maturation chromosomes are not yet fully formed; and it is possible that a subsequent further relationship between the chief nucleolus and the chromosomes may be assumed of which there is as yet no intimation, unless possibly the vacuolization described or the diminishing basophile staining reaction evident with the iron-hematoxylin stain but apparently without significance as revealed by extraction of stain and subsequent subjection to AUERBACH's mixture. From numerous and widely different sources the evidence accumulates that nucleoli contain something necessary for the formation of the chromosomes.

The true and full nature of this relation between chromosomes and nucleoli cannot yet be discerned, but the above facts add to the cumulative evidence respecting the partial function of the nucleolus as a storehouse of at least some of the constituent elements of chromosomes, it may be a nutritive substance. In *Cribrella* the chromosomes consist of a red-staining (in AUERBACH's stain) ground substance onto which the nucleolar buds (green) pass and with which they become incorporated. It is suggested, though impossible of verification, that the „ground substance“ (linin?) may contain the essential element of the chromosome, and that the chromatic constituent is a secondary (nutritive?) substance.

BOVERI's[1]) law deduced from a study of the size relations of the cells and their nuclei in sea-urchin larve (developed by parthenogenesis or merogany and mechanical treatment, i. e. shaking shortly after fertilization so as to produce cells with half and twice the specific number of chromosomes respectively) and formulated as follows: »Die Größe der Larvenzellen ist eine Funktion der in ihnen enthaltenen Chromatinmenge, und zwar ist das Zellvolumen der Chromosomenzahl direkt proportional« (p. 74), receives partial confirmation from a comparison of the egg of *Asterias forbesii* with those of the two species above mentioned. In respect to size the eggs and nuclei of *Cribrella* and *Echinaster* are very approximately identical. Their nuclei have a diameter of about 300 microns and the eggs vary from 500 to 800 microns. The egg of *Asterias* has a diameter of about 100 microns and its nucleus varies from 40 to 50 mi-

---

[1]) BOVERI, TH. Zellenstudien V. Über die Abhängigkeit der Kerngröße und Zellenzahl der Seeigellarven von der Chromosomenzahl der Ausgangszellen. Jena. 1905.

crons. Both the egg of *Cribrella* and its nucleus have a diameter approximately six times as great as that of the egg and nucleus of *Asterias*.

The larger size of the egg of *Cribrella* involves a larger nucleus and may demand more nuclear chromatin. The latter is present in the form of very many secondary nucleoli of varying sizes. The evidence here seems to indicate that cell size is a function of chromatin mass as held by Boveri. But not all of this nucleolar material goes to form chromosomes. The important question as to the physiologic difference between the chromatin that goes into the chromosomes and that which is resorbed by the cytoplasm still remains. The simplest hypothesis, again, and one to which there appears the least objection seems to be that the chromatin in both instances is of the nature of nutritive material.

It will furnish an interesting point in a further comparative study of *Asterias* and *Cribrella* to confirm or refute the second portion (applied in a wide sense) of Boveri's law, viz.: that the cell volume is directly proportional to the chromosome number. If this law prevailed as regards the two asteroid forms *Asterias* and *Cribrella* we should expect to find a very great number of chromosomes in the latter, as I had previously concluded for *Echinaster*, or perhaps very large chromosomes. Nothing definite can be said at present regarding the chromosome number or size either in *Cribrella* or *Echinaster*. This matter must wait for a contemplated study of the maturation stages. It appears more probable though, from the slight evidence that can be derived from a study of the spermatogenesis of *Cribrella*, that the specific chromosome number does not exceed the usual (for a number of Echinoderms) somatic complement of 36. Among different orders and families (e. g., *Toxopneustes*, *Asterias* and *Cribrella*) cell size and the amount of nuclear chromatin appear to bear a certain relationship to each other; but it would seem that this relationship does not necessarily involve the number or size of chromosomes.

Histologische Beobachtungen über die Mitochondrien, sowie die Struktur und Entwicklung der Muskelfasern einiger Wirbellosen.

Von

Alexis Korotneff,
Direktor der Zoolog. Station zu Villafranca.

Mit 23 Textfiguren.

Da die histologischen Eigentümlichkeiten der Siphonophoren noch sehr wenig untersucht sind, möchte ich jetzt die Aufmerksamkeit auf den Polymorphismus des Epithels dieser Tiere lenken, wobei ich trachten werde, denselben mit der Frage der Mitochondrien und Chondriosomen zu verbinden, über welche in der letzten Zeit so viel geschrieben wurde und welche immer noch als sehr problematische Gebilde erscheinen. Von den Siphonophoren wurden in dieser Hinsicht *Praya maxima*, *Velella mediterranea* und *Physophora hydrostatica* untersucht. Was *Praya* angeht so will ich die Ectodermzellen ihres Siphosoms (Coenosark — R. Hertwig) beschreiben, welche von der Oberfläche gesehen länglich erscheinen, stark lichtbrechende Kerne und stäbchenförmige, an Chondriosomen erinnernde Inhaltskörper aufweisen (Fig. 1). Mich zum Bau des Siphosoms wendend, muß ich erwähnen, daß derselbe in seinem Innern einen Kanal enthält, der mit einem direkt der Membrana propria (Stützlamelle) aufliegenden Plattenepithel überzogen ist. Die Stützlamelle besitzt zahlreiche nach der Peripherie gerichtete Scheidewände, die mit Längsmuskeln besetzt erscheinen. Die letzteren hängen unmittelbar mit jener Epithelschicht zusammen, von welcher eben die Rede war. Die Form dieser Zellen scheint sehr eigentümlich zu sein: 1) sie bestehen aus einem Zellkörper, der das Aussehen einer eckigen Schuppe besitzt und 2) aus einem langen Fortsatz oder Füßchen, welches einen in der Nähe des Zellkörpers befind-


Fig. 1.

lichen Kern enthält (Fig. 2 und 3). Mit seiner breiten Basis sitzt das Füßchen auf einer Muskelfaser, wodurch man das Recht hat, Muskelfaser und »Schuppenzelle« als eine sehr veränderte Epithel-Muskelzelle anzusehen. Da das Füßchen der Zelle sich mehr oder weniger tief in die Muskelzelle hineinversinkt, so erhält sie hierdurch eine verschiedene Länge; deswegen sind auch die beschriebenen Epithelmuskelzellen so verschiedenartig geformt, was man aus der Fig. 4 ersehen kann.

Nicht weniger originell sind die Ectodermzellen, welche in einer kontinuierlichen Schicht die obere Fläche der *Velella* bedecken. Da *Velella* sehr geringe und ganz lokale (am Rande des Velums) Schwimmbewegungen ausführt, so besitzt ihr Ectoderm, das die Schale bedeckt, keine Muskelfasern und besteht aus eigentümlichen Zellen, welche auf den Fig. 5, 6, 7 und 8

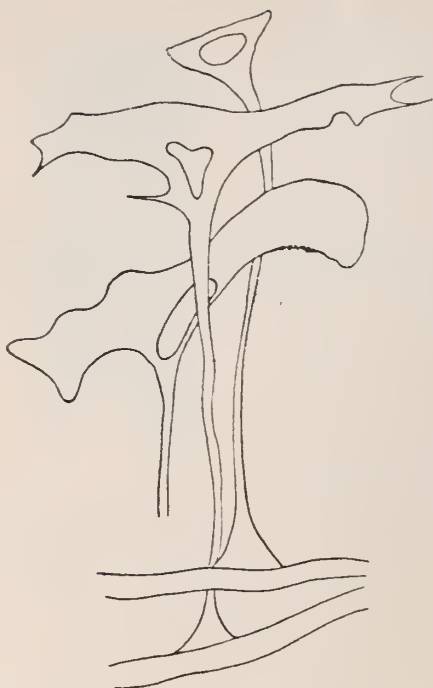
Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.



abgebildet sind. Diese Zellen sind cylindrisch mit etwas verbreitertem proximalem und distalem Ende. Die Höhe der Zellen ist sehr verschieden: in manchen Fällen sind es kurze Pfeiler, in andern gebogene und gewundene Säulen. Der Kern liegt basal, dicht an der Stützlamelle und ist oft mit grobkörnigem, strahlenförmig angeordnetem Protoplasma umgeben, das mit dem der benachbarten Zellen sich verbindet; der übrige Teil der Zelle ist hyalin; teils zeigt er schwach angedeutete Fibrillärstrukturen. Es ist indessen möglich, daß diese Fibrillen physiologisch die Eigenschaften von Muskelfasern besitzen, denn in den Präparaten haben die nebeneinander liegenden Zellen eine verschiedene Höhe: manche sind kurz, andere lang; die einen haben sich also ausgedehnt, die andern sind zusammengezogen

Fig. 5.



Fig. 6.



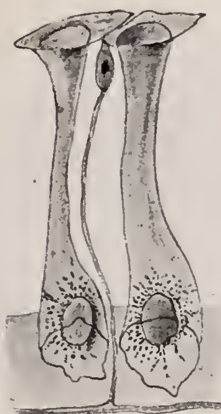
und geschrumpft. Die eben beschriebenen ectodermalen Elemente berühren sich gegenseitig mit ihren Basalteilen, während die zwischen ihnen befindlichen Räume, wie es scheint, von einer gallertartigen Substanz erfüllt sind. In der Tiefe der erwähnten Ectodermzellen liegt ein

Netz von Nervenfibrillen und -zellen, deren Anwesenheit ich noch vor längerer Zeit konstatiert habe. Von diesem Netz gehen Fibrillen und

Fig. 7.



Fig. 8.



Zellen ab, welche zwischen Ectodermzellen sich nach der Oberfläche hin erstrecken (Fig. 6 und 8).

Mit der Histologie von *Velella* beschäftigt möchte ich hier einiger besonderer, Nesselkapseln beherbergenden, Verdickungen der Randtentakeln dieses Tieres Erwähnung tun; sie sind in der Fig. 9 und 10 abgebildet. Hier gehen die sowohl an der Oberfläche wie auch in der Tiefe der ectodermalen Wand gelegenen Nesselzellen in einen wahrscheinlich muskulösen Fortsatz über, von welchen ein jeder mit einer birnförmigen Verdickung versehen ist, welche die Zelle selbst festhält, hingegen die Entfernung der Nesselkapsel nicht verhindert.

Fig. 9.

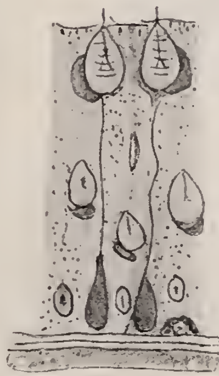


Fig. 10.



Noch eigentümlicher ist an einigen Stellen das Ectoderm von *Physophora hydro-*

statica gestaltet. Im allgemeinen gesagt ist diese Form viel empfindlicher und alle ihre Bewegungen zeichnen sich durch große Zweckmäßigkeit aus[1]). Was die einzelnen Teile des Tieres angeht, so möchte ich hier folgende Organe berücksichtigen: die orangeroten Taster und die blasenförmige Erweiterung des Siphosoms, an welchem die Taster angebracht sind. Betrachtet man das Ectoderm der Taster von der Oberfläche, so bemerkt man in ihm eine große Anzahl von Drüsen und in der Tiefe eine große Menge sich in allen Richtungen durchkreuzender Nervenfasern mit länglichen Nervenzellen (Fig. 11). Dasselbe Ectoderm enthält an seiner Oberfläche eine Masse ziemlich regelmäßig angeordneter, sehr eigentümlicher Körnchen, von welchen später die Rede sein wird. Jetzt wollen wir Querschnitte durch den Taster und durch das Siphosom betrachten. In der Tiefe des Schnittes unterscheiden wir die Stützlamelle, deren Scheidewände von Querschnitten der Längsmuskeln (Fig. 12) besetzt sind. Zwischen diesen Querschnitten sieht man Protoplasmastränge, welche zu den oberen Ectodermzellen gehören. Ganz an der Oberfläche liegen zwischen den letzteren Nematocysten mit ihren stark deformierten Kernen, von welchen in der Richtung der Muskulatur Faserzüge aus-

Fig. 11.

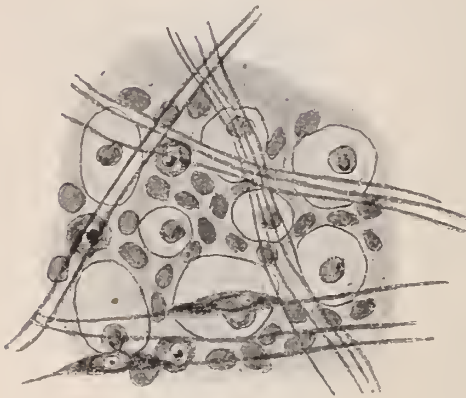
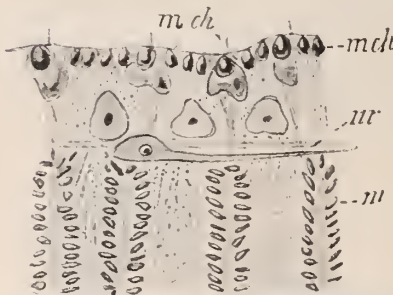


Fig. 12.

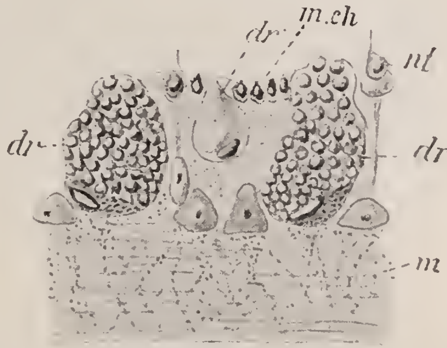


Querschnitt eines Tasters der Physophora hydrost. *m* = Längsmuskeln; *m.ch* = Mitochondrien (Myophoren); *n* = Nerven.

[1]) Gewöhnlich führt die *Physophora* die mannigfaltigsten Evolutionen aus: sie läßt sich rasch zu Boden fallen, hebt sich wieder an die Oberfläche, ist bestrebt mit ihren Tastern den sie beunruhigenden Gegenstand zu packen und, schließlich, wenn nötig, der Verfolgung schnell und gewandt zu entfliehen.

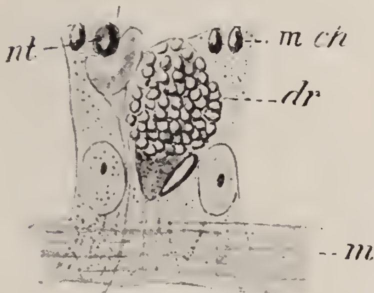
gehen, die zwischen den Muskeln verschwinden. Jene stark lichtbrechenden, glänzenden Körnchen, von welchen soeben die Rede war, liegen in besonderen Vacuolen (Fig. 12 13 und 14) und sind von besonderen Hüllen umgeben. Ich habe sie anfangs für Nematocysten gehalten. Doch die Abwesenheit eines Cnidocils und eines Nesselfadens hat mich davon überzeugt, daß hier keine Nematocysten, sondern irgend welche andern Bildungen vorkommen. Ganz dieselben Verhältnisse der Elemente trifft man auch an den Längsschnitten (Fig. 13 und 14). Man hat hier zwei Arten von Drüsen und dieselben eigentümlichen Einschlüsse. Wichtig ist, daß die beschriebenen glänzenden Körper zu Muskelfibrillen in Beziehung stehen und für die Muskelzelle spezifisch erscheinen: nämlich ihre Größe steht in direktem Verhältnis zur Größe der Muskelfibrillen; in

Fig. 13.



Längsschnitt des Tasters.
dr = Drüsen; *nt* = Nematocysten; *mch* = Chondriosomen.

Fig. 14.



Längsschnitt des Tasters.

Fig. 15.



Ectoderm des Tasters.

den Tastern von *Physophora* sind die Muskeln stark entwickelt und liegen in mehreren Schichten, die glänzenden Körper sind ebenfalls von bedeutender Größe; bei den Freßpolypen hingegen sind die Muskelfasern dünn und in einschichtiger Lage, aber auch die erwähnten Körper sind klein. In andern Geweben kommen sie nie vor, deswegen möchte ich die glänzenden Körper als beständige Gebilde der Muskelzellen ansehen

und sie als Myophoren bezeichnen. Im Weiteren werde ich mich bemühen zu zeigen, daß die Myophoren eigentlich Chondriosomen (oder Chondriomiten) sind und daß sie, verbunden mit den Muskeln, die Quelle der motorischen Kraft repräsentieren[1]).

Sehr eigentümlich ist das Ectoderm der blasenförmigen Erweiterung des Siphosoms der *Physophora*. Von der Oberfläche betrachtet, sehen wir, daß die Ectodermzellen des Siphosoms aus lauter Myophoren bestehen. In der Dicke des Ectoderms treffen wir sowohl Muskeln, welche der Länge nach verlaufen, als auch Nervenfasern und -zellen (Fig. 15 und 16). Isoliert man eine Ectodermzelle, so überzeugt man sich, daß dieselbe von sehr eigentümlichem Baue ist (Fig. 17): innerlich entsendet sie Fortsätze, welche sich zu eckigen Platten ver-

Fig. 16.

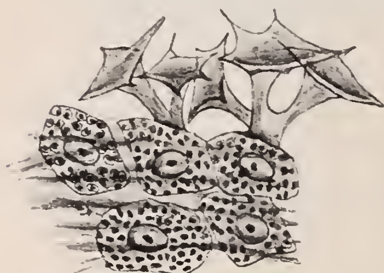


Fig. 17.



Ectodermzelle mit Fortsätzen.

breitern und welche sich an die Stützlamelle anlegen, auf derselben sitzen. An der äußeren Oberfläche der Zelle bemerkt man ein Bündel feinster Muskelfibrillen, die, wie ich bereits erwähnte, längs des Siphosoms und seiner Blase verlaufen und von innen her den erwähnten Myophoren anliegen. Außerdem begibt sich ein Teil der Fasern unter den Kern, umgibt denselben und erstreckt sich bis in die erwähnten verbreiterten Fortsätze der Zelle. Nicht nur ziehen sie sich der Länge nach zusammen, sondern müssen durch ihre Kontraktion auf die Form der Siphosomblase von Einfluß sein, indem sie derselben eine verschiedene Stellung verleihen und vielleicht die Ursache davon sein können, daß das Tier imstande ist, sich auf die Seite zu legen und sich wieder zu erheben. Eine so komplizierte Organisation wie die der *Physophora* muß im Besitze einer gut entwickelten Muskulatur sein, welche durch quergestreifte Fasern

[1]) Als Beispiel kann man in diesem Falle die Zustände im elektrischen Organe anführen: wenn es sich in der Muskelzelle um *Myophoren* handelt, sind die »Palisaden« des elektrischen Organes eigentlich »Elektrophoren«.

repräsentiert werden müßte. Nichtsdestoweniger besitzt das Tier nur glatte Fasern, aber die letzten sind hier höher organisiert als bei der größten Mehrzahl der Coelenteraten. Statt einer einzigen stark lichtbrechenden Fibrille besteht eine Muskelfaser der Siphosomblase aus einem ganzen Bündel feinster Fibrillen. Diese Eigentümlichkeit wird noch durch die Anwesenheit von Myophoren vervollständigt, die aber hier selbständig bleiben und in die Bildung einer quergestreiften Substanz nicht eingehen; das Fibrillenbündel zusammen mit den Myophoren stellt aber physiologisch, wie es mir scheint, die quergestreifte Muskulatur dar, welche sich also hier, histogenetisch, auf einem Übergangsstadium zu einer morphologisch ausgebildeten quergestreiften Faser befindet.

Fig. 18.



Körperparenchym des *Rimacephalus*.
M = Muskelfibrillen; *ch.s* = Chondriosomen.

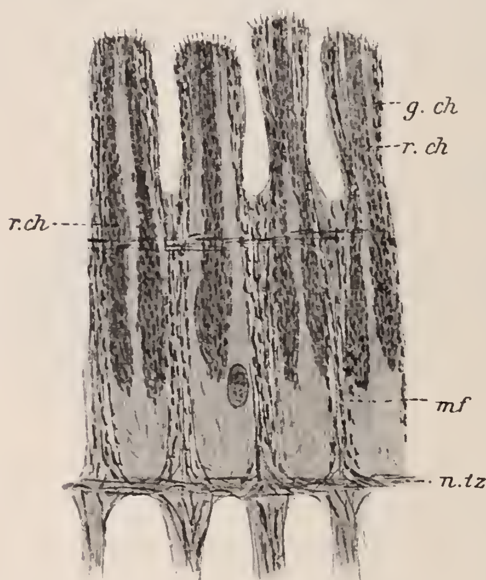
Da ich jetzt noch etwas über die quergestreifte Muskulatur und ihre ontogenetische Beziehungen zu den Chondriomiten zu sagen habe, so möchte ich mich zu einem andern Objekte, nämlich zu den Planarien, aus dem Typus der Tricladen wenden. In einer früheren Arbeit[1]) habe ich mich bemüht zu zeigen, daß eine quergestreifte Muskelfaser jetzt etwas anders aufgefaßt werden muß: man hat nämlich die quergestreifte und glatte Faser als zwei morphologisch ganz verschiedene, nur physiologisch einander ähnliche Gebilde anzusehen. Es dünkt mir hingegen, daß beide gleichbedeutende Bildungen sind, die nur histogenetisch auf einer verschiedenen Stufe stehen. Bei den Planarien trifft man diesen phylogenetischen Zustand am besten ausgeprägt. Bei einer großen Planarie aus dem Baikalsee, bei dem bereits von Grube und später von Sabussoff beschriebenen *Rimacephalus* (Dicotylus) *pulvinar* findet man im Körperparenchym eine starke, neben den Seitenrinnen und Saugnäpfen gelegene Muskulatur. Die letztere besteht aus dünnen, zu Bündeln vereinigten

---

[1]) A. Korotneff, Mitochondrien, Chondriomiten und Faserepithel der Tricladen. Arch. f. mic. An. Bd. LXXIV. 1909.

Fibrillen (Fig. 18). Neben und unabhängig von ihnen findet man im Plasma der Zellen eine große Zahl länglicher Chondriosomen, welche jenen vollständig gleichen, welche in die Bildung der dorsoventralen Muskulatur der Planarien hineinkommen. Ich möchte denken, diese Chondriomiten können keine andere Bedeutung haben, als die Funktion der Muskeln zu verstärken. Dieselbe Erscheinung aber noch mehr ausgeprägt kommt im Saugnapfe derselben Planarie besonders vor. Der Saugnapf findet sich eingebettet im Parenchym des Tieres vor und enthält eine ziemlich geräumige Höhle (von der Größe eines kleinen Stecknadelkopfes), deren Wände innerlich mit Wärzchen besetzt sind (Fig. 19)[1]). Auf einem Längsschnitt sieht man, daß jedes Wärzchen ein Bündel feinster Fasern enthält, welche an die Oberfläche angelaugt eine Verdickung zeigen (Fig. 20), in welcher ein sich stark färbendes, wie ein Basalkörperchen aussehendes Gebilde gelegen ist, auf welchem ein umgebildetes Flimmerhaar, das allerdings mehr einem spitzen protoplasmatischen Auswuchse gleichsieht, angebracht ist. Was noch eigentümlicher erscheint, das ist die Anwesenheit einer großen Menge längs dieser Fasern und in ihrer unmittelbaren Nähe gelegener Chondriosomen. Die letzteren sind spindelförmig, können sich aber verdicken und die Form ovaler Scheiben, die

Fig. 19.



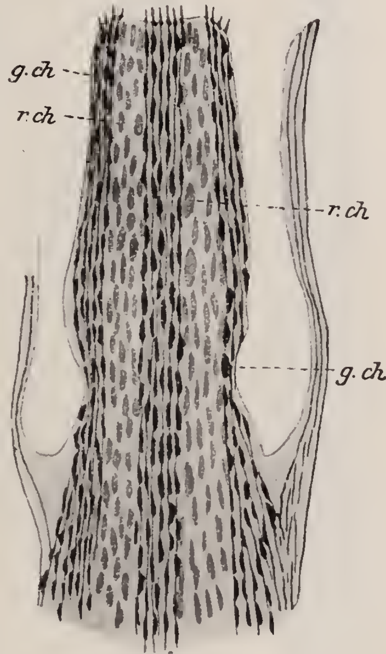
Längsschnitt eines Saugnapfes.
g.ch = gelbe Chondriosomen; *r.ch* = rote Chondriosomen; *mf* = Muskelfasern; *n.tz* = Netz aus Muskelfibrillen.

---

1) Dieselben Bildungen kommen in den Seitenrinnen des Tieres vor, deswegen sind die Saugnäpfe als abgesperrte Teile der Rinne anzusehen. Diese Verhältnisse sind besonders an einer großen Planarie (*Polycotylus profundus*) des Baikalsees zu treffen, wo der Rand der Planarie aus lauter aneinandergereihten Saugnäpfen besteht, die sich bis an das hintere Ende des Tieres hinziehen und auch als selbständige Teile der Rinne zu verstehen sind.

lebhaft an rote Blutkörperchen erinnern, annehmen (Fig. 20). Genauere Beobachtungen zeigen, dass die Chondriosomen sich ins Innere des Saugnapfkörpers erstrecken und hier ganze Anhäufungen bilden (Fig. 19), welche als nichts anders als cyanophile Drüsen gelten. Man findet aber in diesen Bildungen niemals Kerne und ihr Inhalt entspricht in keiner Weise der Vorstellung eines drüsigen Baues von zelligem Charakter. Diese Anhäufungen sind zweierlei Art: 1) die längs der Fasern liegenden, dunkleren und 2) die dazwischen liegenden helleren Chondriosomen. Mit der Färbung von Mallory behandelt, bekommen die ersteren eine orange-gelbliche Farbe (Einwirkung von Orange), die letzteren eine leuchtendrote (Fuchsin). Färbt man die Präparate nachträglich mit Eisenhämatoxylin, so werden die orangegefärbten Chondriosomen schwarz; auf die roten wirkt das Hämatoxylin nicht ein — sie bleiben unverändert. Hierbei bemerke ich, daß in den Anhäufungen gelber Chondriosomen auch einige Male rote vorkommen können. Ihre physiologische Rolle werde ich später besprechen; sie muß jedenfalls eine andere sein, in der Weise daß die Funktion gelber Chondriosomen verschieden sein muß von der der roten. Die Muskelfasern der Wärzchen, die absolut kein Epithel und sogar keine zellige Struktur besitzen (Fig. 20), sammeln sich zu Bündeln und gehen in die Substanz des Saugnapfes über; hier findet man Kerne, aber auch äußerst selten, woraus man mit Sicherheit schließen kann, daß auch hier, wie im Pharynx[1]), die meisten Kerne nach außen eliminiert werden. Tiefer gehen die Fasern auseinander und bilden ein quergelegenes Netz, das parallel der Oberfläche des Saugnapfes verläuft

Fig. 20.



Wärzchen des Saugnapfes.
r.ch = rote Chondriosomen; *g.ch* = gelbe Chondriosomen.

---

[1]) A. Korotneff, Cytologische Notizen (Tricladenpharynx). Zeitsch. f. wiss. Zool. Bd. LXXXIX. 1908.

(Fig. 19, 21 *n.tz*). Über diesem Netze bemerkt man kleine Höhlen, zwischen welchen große, saftige, mit großen Kernen versehene Zellen sich befinden (*nr*); von diesen Zellen gehen nach innen Fortsätze ab, die sich zwischen die Muskelfasern hineindrängen und halte ich diese Elemente für Nervenzellen. Weiter aber verlaufen die Fasern zentripetal und zwischen ihnen trifft man zahlreiche Muskelkerne, als auch Haufen von Chondriosomen (*chs*); dann aber, in einer bestimmten Entfernung, vereinigen sich die Fasern und bilden starke Muskelbündel (*M*). Jedes Bündel, es längs des ganzen Saugnapfes verfolgend, teilt sich unten in zwei, vielleicht in mehrere Stränge, von welchen an Schnitten (Fig. 19) der eine Teil zu einem, der andere zu einem andern Wärzchen sich begibt. Dem Baue nach ganz denselben Charakter haben auch die Rinnen, welche von den Saugnäpfen längs der Körperseiten des Tieres verlaufen. Mit den Saugnäpfen haftet sich das Tier fest, deswegen müssen wohl auch die Rinnen als Haftorgane fungieren. Ich möchte noch bemerken, daß die Chondriosomen dort vorkommen, wo die Organe, wie z. B. die Saugnäpfe, besonders tätig sind; in den umgebenden Körperteilen der Saugnäpfe, trotz der Anwesenheit von Cilien und Muskelfasern, findet man gar keine Chondriosomen, da die Muskeln hier also keiner Verstärkung ihrer Tätigkeit bedürfen. Jetzt möchte ich einige, sehr eigentümliche Bildungen erwähnen, welche, wie mir scheinen will, eine nicht ganz richtige Beurteilung erfahren haben. O. Schmidt hat nämlich gefunden, daß die Rhabdoiden (d. h. Rhamniten und Rhabditen) sich nicht in der Haut, sondern in besonderen, tief im Mesenchym gelegenen birnförmigen Zellen entwickeln und dann sich zur Oberfläche begeben. Leuckart hat dasselbe gesehen und fügte zu der Beschreibung, daß die Rhabdoiden sich versammeln und ganze »Straßen« bilden, welche, wie schon mitgeteilt, hauptsächlich zum vorderen Ende des Körpers verlaufen. Anfangs hat Prof v. Graff vermutet, daß alle Rhabdoide sich aus derselben Grundlage entwickeln; jetzt weiß man aber, daß die Rhabdoide

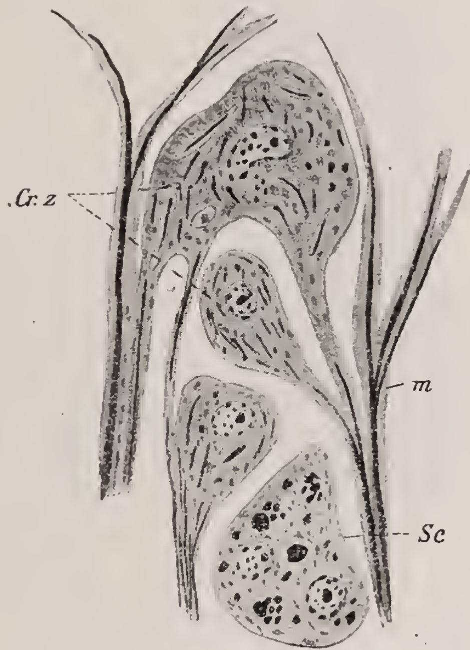
Fig. 21.



chs = Chondriosomen
M = Muskelbündel
mf = Muskelfibrille
ntz = Netz
nz = Nervenzellen.

in einer andern Weise entstehen und oberflächlicher als die Rhamniten liegen. Die ersteren stellen dabei bedeutend voluminösere Bildungen dar und befinden sich zwischen der Ring- und Längsmuskulatur in einer phagocytären, protoplasmatischen Zellenschicht[1]), die Rhamniten aber bilden die schon erwähnten Straßen und befinden sich eher in den zentralen Teilen des Tieres. Es ist dabei zu erwähnen, daß die Straßen einzelne Haufen bilden und miteinander durch Stränge und Verästelungen verbunden sind. Die Hauptmasse von ihnen umgibt das Gehirn und wendet sich dann, wie gesagt, zum Vorderende des Tieres zu jener Stelle, wo bei der Gattung *Sorocelis* das Drüsenpolster liegt, dann auch zu den Kriechleisten und auch zur seitlichen, scharfen Kante des Tieres. Nach v. GRAFF, BÖHMIG und LUTHER haben wir also mit einem System von Kanälen zu tun, die mit den Stäbchendrüsen (birnförmigen Zellen) in Verbindung stehen; dabei ist die Abwesenheit von bestimmten Zellwandungen dieser Kanäle ein Zeichen, daß man es hier eher mit Intercellularräumen zu tun hat, (nicht »intracellulär« wie es GRAFF meint). Deswegen ist die Benennung »Straßen« kaum günstig; man muß sie vielmehr als »Lakunen« bezeichnen. Da die letzteren intercelluläre Bildungen sind, die keine eigenen Wandungen besitzen, können sie gewiß nicht als Cölom gelten, sondern müssen als mesenchymatöse Räume angesehen werden[2]).

Fig. 22.



Cr. z = Birnförmige Zellen; *m* = Muskelfasern; *Sc* = Syncytium.

[1]) Beiläufig gesagt kommen in dieser Schicht außer den Rhabditen noch sich überkreuzende, schief verlaufende Muskeln vor.

[2]) Ich weiß nicht, ob Herr Dr. J. WILHELMI in seiner Monographie über »Tricladen« (Fauna und Flora des Golfes von Neapel 32 Mong.) eine Absicht verfolgt, indem

Was die birnförmigen Zellen angeht, so sind es ganz besondere nichtdrüsige, sondern ohne Zweifel muskulöse Elemente, welche sich zu Muskelfortsätzen oder -fasern ausziehen und zwischen den parallel verlaufenden dorso-ventralen Muskeln Platz greifen. Nebenbei gesagt ist die Lagerungsweise dieser Zellen ziemlich eigentümlich: an der Stelle, wo jede dorsoventrale Muskelfaser sich auf der dorsalen und ventralen Oberfläche verästelt, bildet sie mit der benachbarten Faser eine Arke (Fig. 22); in derselben und ihr anliegend befindet sich eine große Deckzelle, die von beiden Seiten sich in zwei oder mehrere Fortsätze verlängert. Näher zur mittleren Querachse der Tieres und der in jeder Arkade befindlichen Zelle liegen auf der einen und der andern Seite die birnförmigen Zellen (*Cr.z*), von welchen eine jede sich in eine entsprechende Faser verlängert[1]). Diese Zellen (Plasma) färben sich mit Mallory licht-blau; sie legen sich der dorso-ventralen Faser an, verstärken dieselbe und verschmelzen mit ihr zu einem gemeinsamen Muskel, der nach und nach eine hellgelbe Färbung annimmt. Was nun den Bau der birnförmigen Zellen angeht, so ist derselbe von Luther ganz richtig geschildert worden und ist bemerkenswert durch die Anwesenheit von besonderen Gängen, Kanälen, in welchen nach Luther und andern die sogenannten Rhamniten, nach

Fig. 23.



Querschnitt der Kantenleiste.
g. ch = gelbe Chondriosomen, die eine plastische Rolle spielen und mit Muskelfibrille vereinigt bleiben; *r. ch* = rote Chondriosomen werden als kleine Klumpen ausgestoßen.

---

er über die »Straßen« der Rhamniten kein Wort erwähnt; daß er diese Bildungen nicht übersehen hat, ersieht sich aus der Tatsache, daß er und viele andere Forscher über cyanophile Drüsen, die das Gehirn und Darmäste umgeben und nicht anders zu verstehen sind als solche Straßen, oft sprechen. Jedenfalls scheint mir die Meinung, daß Drüsen den bedeutenden Teil des Körpers bis in sein Inneres durchdringen und ein gemeinschaftliches Netz bilden können, unmöglich. Aus der Behauptung von Wilhelmi, daß im Mesenchym Lücken vorkommen, die mit Perivisceralflüssigkeit erfüllt sind, schließe ich, daß Straßen, cyanophile (innere) Drüsen und Lücken gleich sind.

[1]) Ganz gleiche Zellen (Myoblasten) sind von Bettendorf (Über Muskulatur und Sinneszellen der Trematoden. Zoolog. Jahrbücher, Bd. X, 1897) für die Trematoden beschrieben worden.

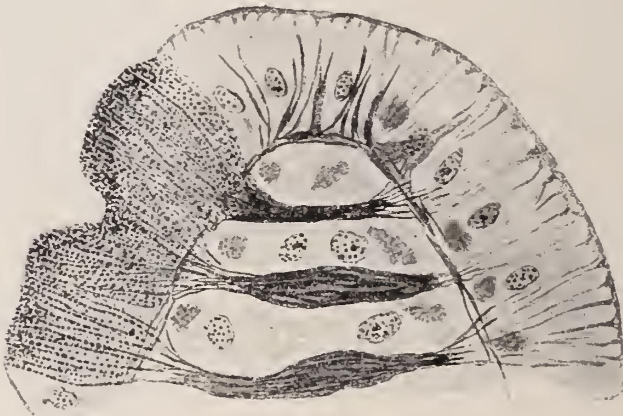
meiner Ansicht aber zu anisotropen Muskelfasern werdende Chondriosomen sich entwickeln. Wie könnten eigentlich Rhamniten in Muskelzellen sich entwickeln? eine solche Vermutung wäre ein wahrer Nonsens. Es wäre verständlich, wenn Rhamniten in Parenchymzellen entstehen würden, jedenfalls nicht in Muskelzellen.

Nach meinen eigenen Beobachtungen geht der Prozeß folgendermaßen vor sich: im Syncytium entstehen Mitochondrien (Fig. 22*sc*), sie verwandeln sich in Chondriosomen, welche verschiedene Aufgaben zu übernehmen haben: die einen erfüllen die Myoblasten, was ich schon früher beschrieben habe, die an der Entwicklung der dorso-ventralen Muskulatur teilnehmen, die andern bilden die erwähnten intercellulär liegenden Ansammlungen, die mit dem vorderen Polster und mit den lateralen Kriechleisten kommunizieren; diese möchte ich gerade hier beschreiben. Ein Querschnitt der Kriechleiste (Fig. 23) beweist, daß die Chondriosomen sich hier in einer Menge zusammengeballt haben und unter der Oberfläche, ohne mit Epithel bedeckt zu sein, liegen. Die Ansammlungen haben eine unregelmäßige Form und sind mit den netzförmigen Lakunen (Straßen) verbunden; zur Oberfläche entsenden sie Kanälchen. Dieses Verhalten wird von Böhmig geleugnet, von Ludwig aber mit vollem Recht angenommen. In den Räumen zwischen den Ansammlungen verlaufen zur Oberfläche blasse Muskelfasern, die stumpf endigen ohne Flimmerhaare zu tragen. Auf diesen Fasern lagern sich, wie dies bereits für die Wärzchen beschrieben wurde, Chondriosomen in Gestalt von Körnchen oder Spindeln perlenartig ab. Diese Chondriosomen färben sich entweder gelb oder schwarz (Eisenhämatoxylin), niemals rot. Im Gegenteil bleiben die Chondriosomen der Ansammlungen immer rot. Außer der Färbung: die roten Chondriosomen werden nach außen als kleine Klumpen eliminiert, die gelben nicht. Ich möchte auch noch erwähnen, daß die Fasern, wenn sie sich in die Tiefe begeben, sich in toto oder ganz oder teilweise schwarz färben, indem sich die anisotrope Substanz verschieden ablagert. Die erwähnten Fasern verlaufen in zweierlei Richtungen: die einen begeben sich quer von der Bauchseite zum Rücken, die andern schief zum Seitenrande der Planarie.

Nach der Färbungsweise der Chondriosomen muß man somit zwei Arten von ihnen unterscheiden, die außerdem auch noch dadurch verschieden sind, daß die einen eine plastische Rolle spielen und in die Bildung der Muskelfibrillen eingehen, die andern aber vermittelst der Kantenleiste nach außen eliminiert werden. Vielleicht könnte man ihnen in beiden Fällen (wenn man sie nicht als Rhamniten auffaßt) eine oxydierende Wirkung zuschreiben, namentlich wenn man den Umstand berücksichtigt, daß 1) die

allgemeine Organisation der Planarien, hauptsächlich ihr sehr entwickeltes Nervensystem, schon a priori spezifische Organe oder Bildungen für die Oxydation gebrauchen würde, daß 2) die Anwesenheit eines für den quergestreiften Muskel spezifischen Fermentes (Hämochromogen) nachgewiesen worden ist. Unwillkürlich kommt man zu der Vermutung, ob man nicht ein solches Ferment in den Chondriosomen der Planarien suchen müßte und ob es nicht die anisotrope Substanz ist, welche die oxydierende Funktion im Muskel ausübt. Was soll man aber in diesem Falle von Chondriosomen denken, die eliminiert werden, und folglich für den Organismus verloren gehen. Vielleicht ist die oxydierende Rolle der

Fig. 24.



Querschnitt des Seitenrandes der *Sorocelis albifrons*.

Chondriosomen eine weniger spezifische und erstreckt sich nicht allein auf die Muskeln, sondern auch auf den ganzen Körper. Werden die roten Chondriosomen nicht deswegen eliminiert, weil sie ihre Rolle ausgespielt haben und verbraucht sind?

Unter den das Gebiet der Muskelfasern und Mitochondrien betreffenden Erscheinungen gibt es eine in physiologischer Hinsicht äußerst interessante; sie kommt bei einer kleinen Baikalplanarie, *Sorocelis albifrons* (n. sp. mihi) vor, die durch einen sehr eigentümlichen Bau ihrer längs der Seitenränder des Tieres verlaufenden dorsoventralen Muskelfasern ausgezeichnet ist. Wie man auf der Figur (Fig. 24) sieht, befinden sich hier 3 dicke Quermuskeln, welche sehr kompakt sind und sich intensiv färben; an der dorsalen und ventralen Fläche zerfallen sie in eine große Zahl von

feinen Fasern, die die Membrana propria durchsetzen und in epitheliale Zellen eindringen, aber ihre Beziehungen zu den letzteren sind wesentlich andere als die in meiner letzten Arbeit geschilderten: auf der Rückenfläche verlieren sich die Fibrillen in den peripheren Lagen des Protoplasmas der Zellen, welche letzteren hier eines Flimmerbesatzes entbehren. Was die Bauchfläche angeht, so sehe ich hier ganz andere Einrichtungen: erstens fehlen, ebenso wie in den Saugnäpfen, Zellenkerne; zweitens kommen hier Granulationen vor, aber keine Drüsen. Die Granula sind kleine stark-lichtbrechende Chondriosomen, die aus der Tiefe des Epithels sich längs einer Faser zur Oberfläche begeben und nur längs dieser Faser bilden sie bedeutendere Ansammlung. Bei genauem Studium stellt sich heraus, daß die erwähnten Chondriosomen nicht allein längs einer Faser angeordnet sind, sondern mit derselben, wie auch in früher geschilderten Fällen, im organischen Zusammenhange stehen; ich möchte sogar sagen, daß die Chondriosomen gleich entfernt voneinander sind, so daß wir es hier mit einem embryonalen Zustande des quergestreiften Muskels zu tun hätten. Der Name, den v. Graff dieser Bildung gibt, Kriechleiste, entspricht ihrer physiologischen Leistung; die Muskelfäserchen, durch die Gegenwart der Chondriosomen zu einer energischen Tätigkeit angefacht, funktionieren in verstärktem Maße; indem sie sich zusammenziehen, reißen sie sich von der Oberfläche los, wodurch ein Vakuum gebildet wird, das das Kriechen durch Anheftung ermöglicht. Bei verschiedenen Planarien variieren übrigens diese Beziehungen: bei einigen entbehren die Fasern der Kriechleisten der Chondriosomen ganz, bei andern ist ihre Zahl nur gering, bei andern wiederum sind die Fasern dicht mit Chondriosomen besetzt; man sieht in dieser Weise, daß die Tätigkeit der Kriechleisten der Planarien allmählich verstärkt wird.

The Idiochromosomes in Ascaris megalocephala and Ascaris lumbricoides.

By

Charles Lincoln Edwards.

(Aus dem Zoologischen Institut Würzburg.)

With plates XXI and XXII.

The "accessory chromosome" discovered by HENKING (1891) in *Pyrrhocoris apterus*, has been found as an unpaired idiochromosome [1]) or a group of idiochromosomes, in many other hemiptera and insects, as well as in echinoids (BALTZER, 1909), and in nematodes. McCLUNG (1902) is the first to associate the idiochromosome with the production of sex, under the belief that when a spermatozoon possessing this element fertilizes an egg, a male is produced. In certain forms, STEVENS (1905) and WILSON (1906) demonstrate two idiochromosomes in the female similar to the single one characteristic of the male. Hence contrary to McCLUNG, WILSON (1905) concludes that in these forms fertilization of the egg, which itself possesses an idiochromosome, by a spermatozoon without an idiochromosome produces the male thus characterized by an odd idiochromosome. The spermatozoon carrying an unpaired idiochromosome, fertilizes an egg also with a similar unpaired element, thus producing a female with a pair of idiochromosomes.

FOOT and STROBELL (1907) and, accepting their conclusions, ARNOLD (1909) are skeptical of the existence of sex-producing chromosomes. LEFEVRE and McGILL (1908), and WILSON (1909a and other related papers), have demonstrated that the conclusions of FOOT and STROBELL are erroneous. In cases of disagreement concerning the same species sometimes, it is possible, as in *Ascaris megalocephala*, that even in a large majority

[1]) The terminology used in this paper is that proposed by WILSON, 1909.

of individuals, the idiochromosomes may continue united to one or the other of the ordinary chromosomes, or, on the other hand, there may be a normal individual variation, as WILSON (1909a) shows to be the case in the differing results of himself and MONTGOMERY (1906) in regard to *Metapodius*. WILSON completely demonstrates how extensive this variation may become in the presence of supernumerary idiochromosomes.

As given in my preliminary note (Science, 1910) the material upon which this paper is based includes many specimens of *Ascaris megalocephala* and *Ascaris lumbricoides*. In the preparation of the testes, fixation and staining in SCHNEIDER's aceto-carmine proved the most useful method. In addition corrosive sublimate, 5% in 0,5% sodium chloride + 5% glacial acetic acid, PETRUNKEWITSCH's fluid, acetic alcohol, 4 parts of 96% alcohol + 1 part of glacial acetic acid, and picro-acetic acid were employed for fixing, followed by staining in either MAYER's haemalum, HEIDENHAIN's iron haematoxylin, Kernschwartz, GRENACHER's alcoholic borax-carmine, alcoholic hydrochloric-acid carmine, or safranin of BABES. Smears of fertilized eggs, and whole uteri were incubated at 37° C, or allowed to develop at the temperature of the room. Often the stained genital tubes, brought into clove-oil and tapped gently under a cover-glass gave excellent preparations. Sections of the gonads were $7^1/_2$ μ while those of the uteri 15, 22 and 30 μ.

I desire to thank Professor BOVERI for the many courtesies extended to me, and for his counsel in the course of this work.

Ascaris megalocephala.

HERLA (1894) describes a small fifth chromosome in this species and in some cases where one of the larger chromosomes is shorter than the other three, the author suggests that the small element is due to fragmentation from one of the larger chromosomes. In other cases where the larger chromosomes are equal in size HERLA thinks the eggs might be disperm, fertilized by one bivalens and one univalens spermatozoon.

In 1908, having observed in an especially large number of the fertilized eggs of *Ascaris megalocephala bivalens*, a small chromosome which he had previously noted (1899) and thinking it might be a sex-determinant Professor BOVERI suggested to Miss BORING the investigation of the question. Miss BORING (1909) finds the small chromosome in 32% of the 343 bivalens eggs examined, and only very rarely in univalens. She concludes that the small chromosome is sometimes due to fragmentation,

and leaves the possibility of its being a sex-determinant "unsettled for the present".

However in an appendix to Miss Boring's paper, Boveri (1909) comes to the positive conclusion that this small chromosome in *Ascaris megalocephala* is sex-producing, and also reports the finding by himself and Gulick in *Heterakis* of an idiochromosome of the same general character as the type III (*Protenor*, *Anasa* etc.) of Wilson (1909).

In the maturation divisions of the spermatogenesis of *Ascaris megalocephala*, which have been accurately investigated by O. Hertwig (1890) and Brauer (1893) and also by Boring (1909) nothing has been observed hitherto of an independent chromatin element that could be interpreted as an idiochromosome. Boveri (1909) has offered as an explanation for this condition, that the odd chromosome here may be united with one of the large chromosomes. Studying a great number of males, I have found in one lot of forty-five from one horse, two individuals, worms A and B, in which an idiochromosome can be followed throughout the whole maturation period, and another, worm C, from which unfortunately the division section was lost but which shows the idiochromosome in the primary spermatocytes (pl. XXI, fig. 4).

In the equatorial plate of the spermatogonial divisions (pl. XXI, fig. 1), the unpaired idiochromosome is present, as is also shown by Boring (1909), (pl. X, fig. 14). In the vesicular nucleus of the growth period of the primary spermatocytes each of the large chromosomes is composed of four well separated rods, as described by Hertwig (1890), and similar to those given as "pathological" by Brauer (1893) (pl. XI, figs. 105—107). At this time the idiochromosome in worm A is composed of halves in the form of two short rods lying to one side of the two developing tetrads (pl. XXI, fig. 2). In worm B the idiochromosome is distinctly divided (pl. XXI, fig. 5), but the halves are not separated as in worm A. In preparation for the first maturation division the rods of the tetrads shorten and thicken (pl. XXI, figs. 3—6). As the spindle forms, the tetrads divide, with the connected halves of the idiochromosome forming a line between them (pl. XXI, fig. 7). The halves of the idiochromosome are joined to each other and at their ends to one of the dyads of each migrating group of chromosomes (pl. XXI, fig, 8), by protoplasmic processes which extend as mitosis proceeds. In some cases, when the cells have been pressed apart under the cover-glass, the protoplasmic processes are elongated, still maintaining their connections (pl. XXI, fig. 11). The halves of the idiochromosome separate as the cell constricts (pl. XXI, figs. 9—10), until finally, when the division of the cytoplasm is completed, the interconnecting proto-

plasmic thread breaks, and each idiochromosome is drawn close up to its own group of chromosomes (pl. XXI, fig. 12). In worm B, most often in this first maturation division, the idiochromosome passes undivided to one of the secondary spermatocytes (pl. XXI, fig. 13), although it is sometimes divided and distributed just as described for worm A.

As the dyads begin to divide in the second maturation division, the dumbbell-shaped idiochromosome lies between them (pl. XXI, figs. 14—15), with each end drawn out into a protoplasmic connecting fibril (pl. XXI, figs. 14—15). The idiochromosome approaches one pole (pl. XXI, fig. 17), the protoplasmic process breaks at the other (pl. XXI, fig. 18), and the division of the cytoplasm is completed, with the idiochromosome in the one spermatid (pl. XXI, fig. 19). As in the first maturation division so in this, when the daughter cells are artificially separated the protoplasmic connecting thread may be pulled out without breaking (pl. XXI, fig. 20). In worm B the two halves of the idiochromosome which at the end of the first maturation division lodged undivided in one of the two secondary spermatocytes, are distributed in the second division to the daughter spermatids (pl. XXI, fig. 21). Thus, in either case, one-half of the spermatozoa contain the two well-known rod-formed elements while the remaining spermatozoa possess, in addition to the two large chromosomes, the small heterotropic idiochromosome.

Boring (1909) gives only one case (pl. X, fig. 8) of a small chromosome in an egg of univalens, but Boveri (1909) interprets this as due to fragmentation from one of the large chromosomes, as he does also one of the two small elements found by himself in a fertilized egg of bivalens. Boveri (1890) had noted two small intensely-staining spherical bodies lying near the two tetrads of the first polar spindle, and now (1909) he believes them to be the two idiochromosomes of the female disconnected from their usual adherence to the large chromosomes. In a univalens worm I have found a number of equatorial plates of the first cleavage division which show an unpaired idiochromosome (pl. XXI, fig. 22).

Ascaris lumbricoides.

In *Ascaris lumbricoides* the sex-determinant is in the form of a group of five univalent idiochromosomes. In the equatorial plates of the spermatogonial divisions there are forty-three chromosomes (pl. XXII, fig. 23). During synapsis thirty-eight of these elements combine to form the nineteen bivalent chromosomes, while lying toward one side of the vesicular nucleus is the differential group of five idiochromosomes (pl. XXII, fig. 24 *i*).

As the equatorial plate for the first maturation division is formed, the five idiochromosomes are drawn into the midst of the ordinary chromosomes (pl. XXII, fig. 25). In the metaphase of the first division the idiochromosome pentad group lies in the center of the nineteen bivalent chromosomes (pl. XXII, fig. 26). As the two sets of nineteen chromosomes separate, the five univalent idiochromosomes are suspended in a group between them (pl. XXII, fig. 27). Each daughter group of nineteen chromosomes proceeds polarwards in the form of a somewhat irregular double ring (pl. XXII, figs. 28—29*a*, *c*), while in the lagging heterotropic pentad (pl. XXII, figs. 30—31) often one element is the larger and joined to its own polar group by a protoplasmic thread (pl. XXII, fig. 30). However one element is not constantly the larger, and consequently we cannot subdivide the pentad into two classes of idiochromosomes. In the anaphase this pentad element is drawn into the midst of the nineteen ordinary chromosomes (pl. XXII, figs. 31—32), so that at the end of the first division there are two kinds of secondary spermatoc tes, one with simply nineteen chromosomes and the other with nineteen chromosomes plus the five heterotropic idiochromosomes.

During the second maturation division the differentiated secondary spermatocytes divide equationally, producing sister cells, one class pair with twenty-four chromosomes, including the five idiochromosomes (pl. XXII, fig. 33), and the other pair with nineteen ordinary chromosomes (pl. XXII, fig. 34). In the further development of the spermatids the chromosomes at first form a crescentic group, with the horns gradually closing together to an incomplete ring, accompanied by an increasingly closer approximation of the chromosomes (pl. XXII, figs. 35—38). Within the ring of nineteen elements the idiochromosome pentad group is plainly to be seen (pl. XXII, figs. 35—36).

In agreement with Boveri (1887), Carnoy (1887) and Fürst (1898) (pl. IX, fig. 35), I find twenty-four chromosomes in the equatorial plates of the first and second maturation divisions of the egg (pl. XXII, fig. 39). In accord with Wilson's theory, in each of these groups there are probably five idiochromosomes although I have not found them especially distinguishable. Hence the fertilization of the egg by a spermatozoon having twenty-four chromosomes produces a female with forty-eight chromosomes, including two idiochromosome pentad groups, and by a spermatozoon having nineteen chromosomes, a male with forty-three chromosomes, including one idiochromosome pentad group (pl. XXII, fig. 23). Bonnevie (1901) gives forty-eight to fifty chromosomes as the average result of a series of counts of these elements in the first cleavage spindle. This per-

haps may illustrate a normal variation which might be expected in the number of chromosomes, as well as in their form and size, corresponding to the variations which occur in the characters of the individual which have their ontogenetic source in these chromosomes.

This type of sex-determinant has some similarity with that of *Gelastocoris* (*Galgulus*) *oculatus* described by PAYNE (1908), but differs from it fundamentally in that instead of the pentad element dividing into differential groups of four and one, in *Ascaris lumbricoides* all five constituents of the group go to one daughter cell. The conditions in *Ascaris lumbricoides* are not exactly parallel to any of the types of WILSON (1909). We have here as the fertilization formula:

Egg 24 (including 5*i*) + spermatozoon 19 = zygote 43 (including 5*i*), (♂).

Egg 24 (including 5*i*) + spermatozoon 24 (including 5*i*) = zygote 48 (including 2 (× 5*i*), (♀).

Zoological Institute, University of Würzburg, March 1910.

Literature cited.

1909. ARNOLD, G. The Nucleolus and Microchromosomes in the Spermatogenesis of Hydrophilus piceus (LINN.). Arch. f. Zellforschung, Bd. II.

1909. BALTZER, F. Die Chromosomen von Strongylocentrotus lividus und Echinus microtuberculatus. Arch. f. Zellforschung, Bd. II.

1901. BONNEVIE, K. Über Chromatindiminution bei Nematoden. Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss., Bd. XXXVI.

1909. BORING, A. M. A small chromosome in Ascaris megalocephala. Arch. f. Zellforschung, Bd. IV.

1887. BOVERI, Th. Die Bildung der Richtungskörper bei Ascaris megalocephala und Ascaris lumbricoides. Zellenstudien (I), Jena.

1890. —— Über das Verhalten der chromatischen Kernsubstanz bei der Bildung der Richtungskörper und bei der Befruchtung. Zellenstudien (III), Jena.

1899. —— Die Entwicklung von Ascaris meg. mit besonderer Rücksicht auf die Kernverhältnisse. Festschr. f. C. von KUPFFER.

1893. BRAUER, A. Zur Kenntnis der Spermatogenese von Ascaris megalocephala. Arch. mikrosk. Anat., Bd. XLII.

1887. CARNOY, J. B. La cytodiérèse de l'œuf chez quelques Nematodes. La Cellule, t. III.

1910. EDWARDS, C. L. The Sex-determining Chromosomes in *Ascaris*. Science, vol. XXXI. (196). Apr. 1, 1910.

1907. FOOT, K. & STROBELL, E. C. The »Accessory Chromosome« of Anasa tristis. Biol. Bull., vol. XII.

1898. FÜRST, E. Über Centrosomen bei Ascaris megalocephala. Arch. mikrosk. Anat., Bd. LI.

1891. HENKING, H. Ueber Spermatogenese und deren Beziehung zur Eientwicklung bei Pyrrhocoris apterus. Zeitschr. wiss. Zool., Bd. LI.

1894. Herla, O. Étude des Variations de la Mitose chez l'Ascaride mégalocéphale. Arch. Biol., t. XIII.
1890. Hertwig, O. Vergleich der Ei- und Samenbildung bei Nematoden. Eine Grundlage für celluläre Streitfragen. Arch. mikrosk. Anat., Bd. XXXVI.
1908. Lefevre, G. & Mc Gill, C. The Chromosomes of Anasa tristis and Anax junius. Am. Journ. Anat., vol. VII.
1902. Mc Clung. C. E. The Accessory Chromosome. — Sex Determinant? Biol. Bull., vol. III.
1906. Montgomery, T. H. Chromosomes in the Spermatogenesis of the Hemiptera Heteroptera. Trans. Am. Phil. Soc., vol. XX.
1908. Payne, F. On the Sexual Differences of the Chromosome Groups in Galgulus oculatus. Biol. Bull., vol. XIV.
1905. Stevens, N. M. Studies in Spermatogenesis with Especial Reference to the »Accessory Chromosome«. Carnegie Inst. Publ.
1905. Wilson, E. B. Studies on Chromosomes II. The Paired Microchromosomes, Idiochromosomes and Heterotropic Chromosomes in Hemiptera. Journ. Exp. Zool., vol. II, Nov.
1906. —— Studies on Chromosomes III. The Sexual differences of the Chromosome-groups in Hemiptera, with some Considerations on the Determination and Inheritance of Sex. Journ. Exp. Zool., vol. III, Febr.
1909. —— Studies on Chromosomes IV. The »Accessory« Chromosome in Syromastes and Pyrrochoris with a Comparative Review of the Types of Sexual Differences of the Chromosome Groups. Journ. Exp. Zool., vol. VI.
1909a. —— Studies on Chromosomes V. The Chromosomes of Metapodius. A Contribution to the Hypothesis of the Genetic Continuity of Chromosomes. Journ. Exp. Zool. vol. VI.

Explanation of Plates.

All the figures were drawn with a Zeiss 2 mm. oil immersion objective, those of pl. XXI, with a Zeiss compensating ocular 6 giving a magnification of 1260, and those of pl. XXII, with a Zeiss compensating ocular 12, giving a magnification of 2280.

Plate XXI.

Ascaris megalocephala.

Figs. 1—21: bivalens. Fig. 22: univalens.

Fig. 1. Spermatogonial divisions showing the fifth smaller idiochromosome.

Fig. 2. First spermatocyte. Each of the ordinary chromosomes composed of four rods; the idiochromosome of two.

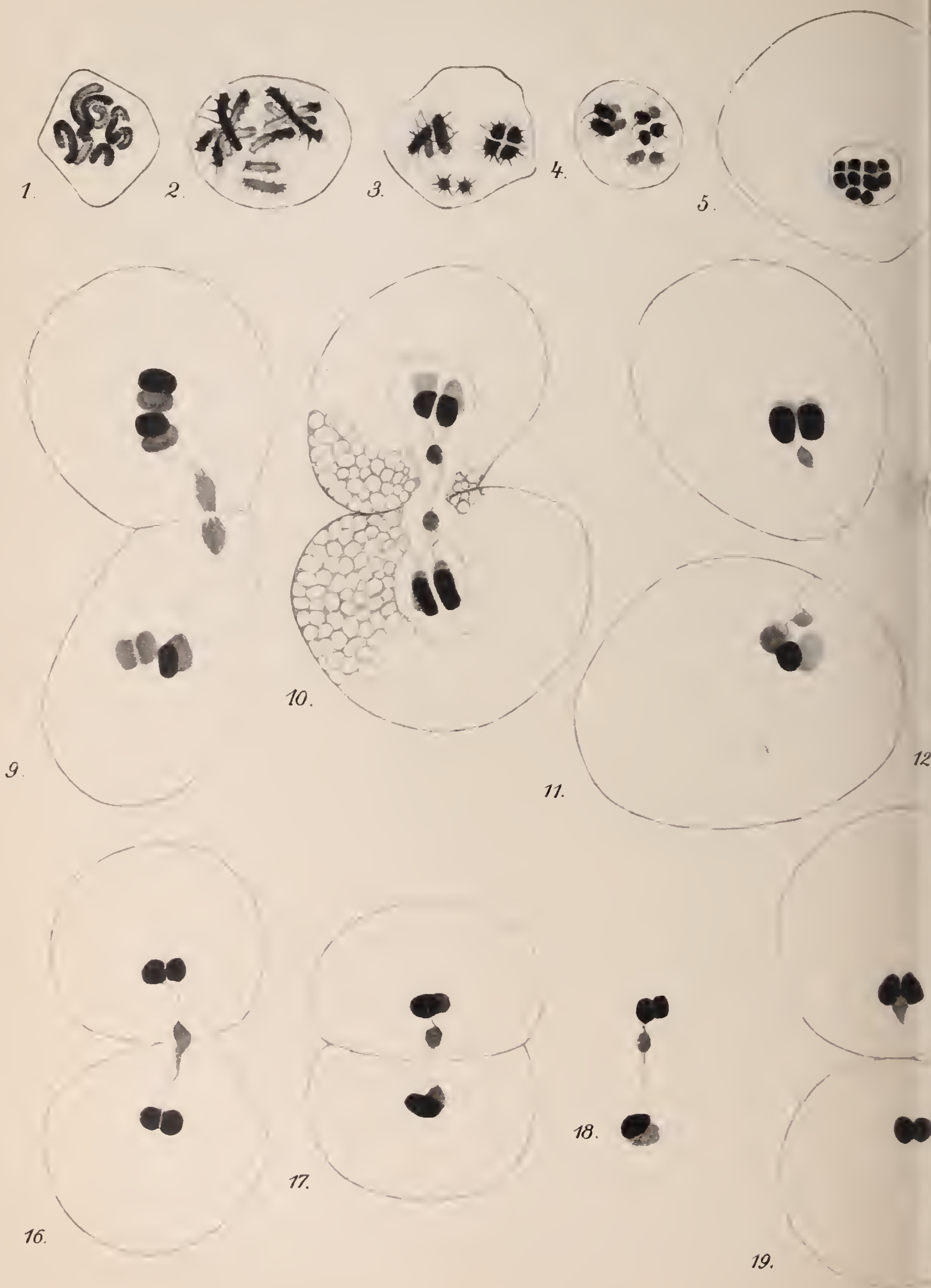
Figs. 3—6. Condensation of the ordinary chromosomes to tetrads. The divided idiochromosome lies below in the figures.

Fig. 7. Beginning of the first division.

Figs. 8—10. First division anaphase. The halves of the idiochromosome in linear arrangement, connected together by protoplasmic processes and also with one dyad in each migrating group.

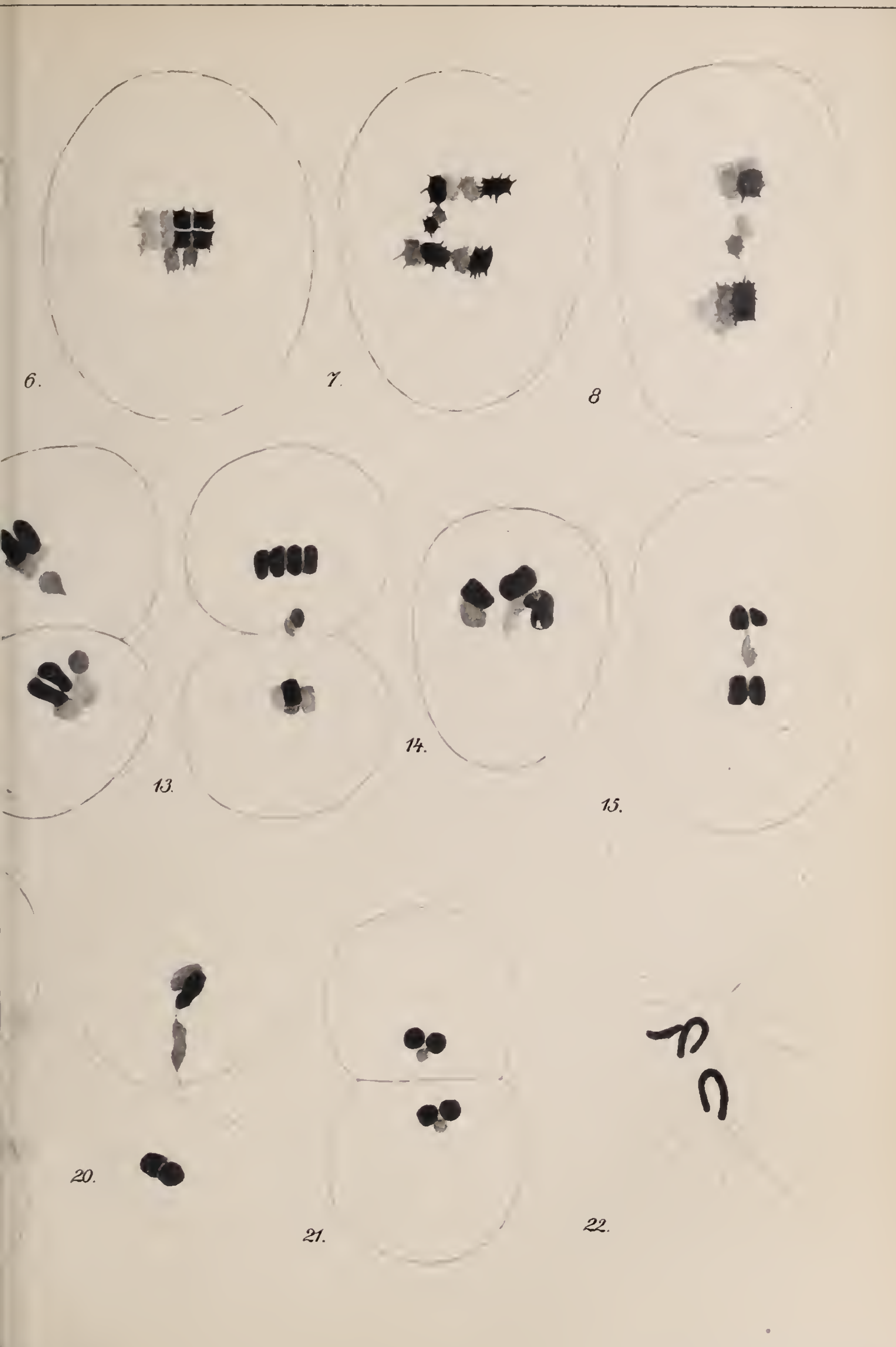
Fig. 9. Showing initial separation of the halves of the idiochromosome as the cytoplasm divides.

Fig. 10. Showing divided idiochromosome, caryolymph and metaplasm.

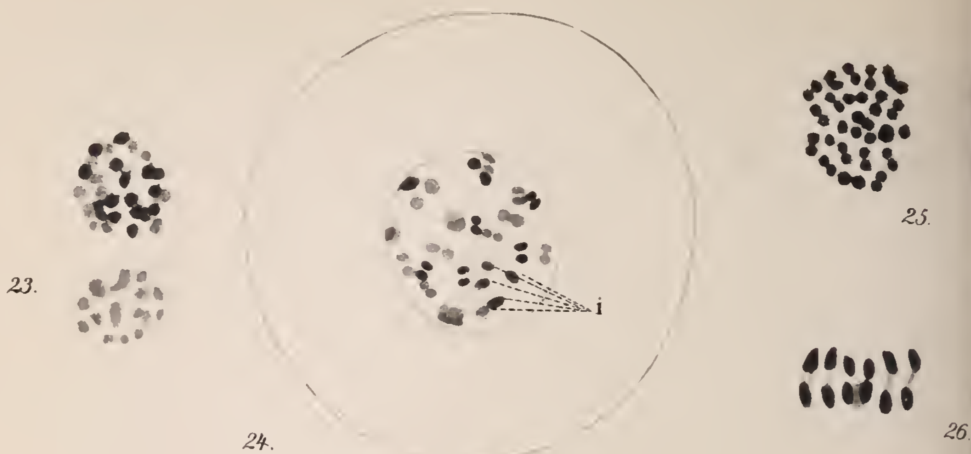


Edwards del.

Verlag v. Wilhel



nann, Leipzig. Lichtdruck v. C. G. Röder, G.m.b.H., Leipzig.



32.

33.

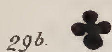
34.



27.



29 a.



29 b.



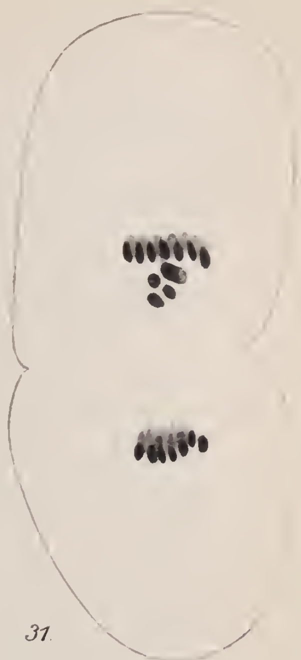
30.



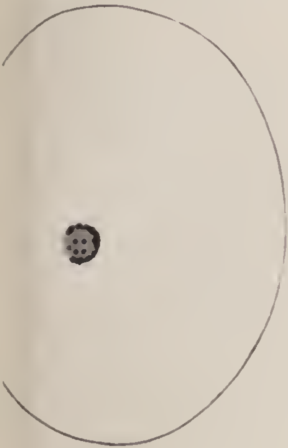




29 c.



31.





36.



39





38.

lmann, Leipzig.

Lichtdruck v. C. G. Röder G. m. b. H., Leipzig.

Fig. 11. Artificial elongation of protoplasmic process between the halves of the idiochromosome.

Fig. 12. First division telophase.

Fig. 13. Idiochromosome passing undivided to one secondary spermatocyte in worm B.

Fig. 14. Second division metaphase.

Figs. 15—17. Second division anaphase showing lagging idiochromosome connected by protoplasmic processes to the dyads other chromosomes.

Fig. 18. Breaking of the protoplasmic thread from one chromosome-pair, while the idiochromosome is drawn toward the other pair.

Fig. 19. Second division telophase with the heterotropic idiochromosome in one of the spermatids.

Fig. 20. Artificial elongation of the protoplasmic process from the idiochromosome to the other chromosomes.

Fig. 21. Separation of the halves of the idiochromosome in worm B occurring in the second division.

Fig. 22. Equatorial plate of the first cleavage division in univalens showing the idiochromosome.

Plate XXII.

Ascaris lumbricoides.

Fig. 23. Spermatogonial division showing forty-three chromosomes, the fifteen of the lowest focus separated in the figure.

Fig. 24. First spermatocyte with nineteen bivalent chromosomes and five univalent idiochromosomes (*i*).

Fig. 25. Equatorial plate of the first division.

Fig. 26. Optical section of the first division metaphase showing the central idiochromosome pentad.

Fig. 27. First division anaphase with lagging idiochromosome pentad, side view.

Fig. 28. First division late anaphase: daughter groups of nineteen chromosomes arranged in double rings; idiochromosome pentad entering one pole; three quarters polar view.

Fig. 29. Same as fig. 28; *a* and *c*, daughter rings of nineteen chromosomes; *b*, idiochromosome pentad; polar view.

Fig. 30. Idiochromosome pentad showing one larger element with protoplasmic process.

Fig. 31. Late anaphase, side view.

Fig. 32. Second division. Equatorial plates of sister cells, each with nineteen ordinary chromosomes, the upper having in addition the idiochromosome pentad.

Fig. 33. End of the second division of the secondary spermatocyte with twenty-four chromosomes; polar view.

Fig. 34. End of the second division of the secondary spermatocyte with nineteen chromosomes; polar view.

Figs. 35—36. Spermatids with nineteen ordinary chromosomes fusing together and the idiochromosome pentad in the center.

Figs. 37—38. Closing together of the nineteen chromosomes in spermatids without the idiochromosome pentad.

Fig. 39. Equatorial plate of the first maturation division of the egg, showing twenty-four chromosomes.

Beitrag zur Kenntnis der Eireifung bei den Acanthocephalen.

Von

Hermann von Voss.

(Aus dem Zoologischen Institut in Freiburg i. Br.)

Mit 11 Textfiguren und Tafel XXIII.

Der Zweck der vorliegenden Untersuchung ist, einen Beitrag zu liefern zum bisher über die Eireifung Bekannten, und zwar vor allem zu schildern, wie sich Kern und Plasma während der eigentlichen Wachstumsperiode verhalten. Die Eier der Acanthocephalen erwiesen sich als für den letzten Zweck besonders günstig, waren auch in dieser Beziehung bisher so gut wie gar nicht untersucht, sodaß ich imstande bin, einiges Neue darüber mitzuteilen. Ein vollständiges Bild der Chromatinveränderungen kann ich leider nicht geben, da ich einige Stadien, speziell der Reifungsteilungen, nicht lückenlos habe finden können.

Mein Material, das aus etwa 30 Exemplaren von *Echinorhynchus proteus* Westr. bestand, stammte aus einer Barbe (*Perca fluviatilis*) des Rheins und war im Sommer 1909 mit der Gilson-Petrunkewitschschen Sublimatlösung fixiert worden.

Die Ovarialscheiben der Echinorhynchen enthalten — wie später genauer zu besprechen sein wird — Eier der verschiedensten Entwicklungsstufen nebeneinander, sodaß man auf einem Schnitte durch ein solches Ovar schon eine ganze Reihe der gesuchten Stadien finden kann; ich hätte mich daher beim Schneiden auf einige Serien durch verschiedenaltrige Weibchen beschränken können. So günstig aber das untersuchte Objekt in dieser Hinsicht auch ist, so schwierig war es andrerseits eine Färbung zu finden, die uns alle Einzelheiten in der für Kernuntersuchungen gewünschten Genauigkeit zeigte, so daß ich zahlreiche Serien mit verschiedenen Färbungen vergleichen mußte. Für das Studium des Chromatins erwies sich die Heidenhainsche Eisenhämatoxylinmethode

(kurzes Beizen und Färben, langes Differenzieren) am geeignetsten, nächst ihr die Färbung mit Hämalaun-Pikrokarmin. Als Kontrollfärbungen benutzte ich sehr verschiedene: Boraxkarmin, Alaunkarmin, das Triacid-Gemisch von Ehrlich, die Auerbachsche Methylgrün-Fuchsin-Mischung, Bismarckbraun und Safranin; von ihnen allen ergaben bloß die beiden letzten einigermaßen brauchbare Bilder, wenn auch die Klarheit der Heidenhainschen Methode nie erreicht wurde. Das Verhalten der einzelnen Organe der Eizelle zu den genannten Farbstoffen wird weiter unten an den entsprechenden Stellen für sich behandelt.

I. Das Chromatin während der Wachstumsperiode.

Fast gleichzeitig erschienen in den neunziger Jahren des vergangenen Jahrhunderts zwei »Monographien der Acanthocephalen«, von Hamann (1891) und von Kaiser (1890—92), und in beiden brachten die Genannten vieles über die Anatomie und Entwicklungsgeschichte dieser Würmer, ohne aber auf die Entwicklungsstadien von der Oogonie zum reifen und befruchteten Ei ausführlich einzugehen. Beide beschreiben die äußerliche Gestaltveränderung der Eizelle während dieser Periode (Hamann gibt auch diesbezügliche Figuren), konstatieren die Bildung zweier Richtungskörperchen und das massenhafte Auftreten von Dotterkörnchen, die »den Einblick ins Eiinnere so sehr erschweren« (Kaiser). Diese kurzen und recht allgemein gehaltenen Bemerkungen sind das einzige, was mir über die vorliegende Frage aus der mir zugänglichen Literatur bekannt geworden ist.

Wir kennen bei der weitaus größten Mehrzahl der Echinorhynchenarten keine kompakten, lokalisierten Ovarien, sondern nur in der Leibeshöhle flottierende sog. »Ovarialscheiben«, d. h. mehr oder minder regelmäßig geformte Klumpen von Eiern, die in ihrem Innern die Oogonien, nach außen eine oder mehrere Schichten von Oocyten verschiedenen Alters enthalten (Fig. 15). Die Eizellen reifen im Verbande dieser Scheiben und werden auch hier befruchtet, ja, mitunter liegen auch schon weitentwickelte Embryonen mitten im Ovar, während sie für gewöhnlich isoliert in der Leibeshöhle flottieren, soweit sie nicht in den Uterus aufgenommen sind.

Die Oogonien, die sich mit Hämatoxylin stark färben, lassen wegen ihrer äußersten Kleinheit nur wenig erkennen; immerhin sieht man an besonders gut gelungenen Präparaten eine deutlich fädige Struktur des Chromatins, doch kann ich nicht sagen, ob der Faden ein einheitlicher ist, noch ob eine Längsspaltung in ihm vorliegt.

Die jüngsten Oocyten zeichnen sich durch das Auftreten des Nucleolus aus, der häufig den größten Teil des Kerninnern verdeckt, weswegen auf Bildern nach Eisenhämatoxylinpräparaten, auf denen er tief schwarz gefärbt ist, so gut wie nichts vom fädigen Chromatin zu sehen ist; erst etwas später, wenn der Kern an Umfang zugenommen, der Nucleolus aber nicht im gleichen Maße gewachsen ist, kann man feststellen, daß ein Gewirr von zarten, schwach färbbaren Fäden das Kerninnere durchsetzt; die Fäden sind so zahlreich, daß ich in der betreffenden Figur (1) bei weitem nicht alle eingetragen habe. Auf ihnen nun sieht man viele chromatophile Körnchen liegen, so daß das Ganze einem gewundenen Faden mit zahlreichen eingeschlungenen Knoten wohl am besten zu vergleichen wäre. Der Kernmembran genähert liegt der große Nucleolus, der regelmäßig von einer hellen Zone umgeben erscheint; ein zweiter, kleinerer ist nicht selten zu finden. Niemals habe ich eine bestimmte Anordnung der Fäden zum Nucleolus gesehen, sie liefen durchaus regellos durcheinander und manchesmal auch über den Nucleolus weg.

Bei einer der vier dargestellten Oocyten (Fig. 1) hat das Wachstum des Plasmakörpers der Zelle schon begonnen; es schreitet jetzt rasch fort, den Umfang des Eies um ein Bedeutendes vermehrend. Das Chromatin hat sich zu deutlichen, leicht zackig begrenzten Fäden angeordnet, die aber in bezug auf ihre Dicke und Färbbarkeit Variationen zeigen (Fig. 2). Manchmal lassen sich an ihnen noch ähnliche lokale Verdickungen nachweisen, wie sie uns in den »Knoten« des vorigen Stadiums vorlagen. Die in den Bildern dieses Stadiums deutlichen freien Fadenenden lassen, scheint mir, den Schluß zu, daß wir es schon hier nicht mit einem einheitlichen Spirem, sondern mit getrennten Chromosomen zu tun haben.

Auf diese Periode der dünnen Chromatinfäden (Leptotänstadium von v. Winiwarter) folgt eine, nach ihrer häufigen Beobachtung zu urteilen, lang andauernde Periode der dicken Fäden (Pachytänstadium). Die Figuren 3, 4, 5, 6, 7 und 8 gehören alle zu ihr, und wir ersehen daraus, daß in diese Periode eine Synapsis des Chromatins fällt, d. h. eine einseitige Zusammenziehung desselben im Kern. Diese ist in jedem Schnitt durch eine beliebige Ovarialscheibe stets mehrfach anzutreffen und scheint demnach eine regelmäßige Erscheinung während der Reifung der Acanthocephalen-Eier zu sein und nicht etwa ein durch die Fixierung hervorgerufenes Kunstprodukt darzustellen; leider fehlte mir die Gelegenheit zur Untersuchung lebenden Materials speziell auf diese Frage hin, aber die Beobachtungen anderer

Forscher (Overton, Schleip) beweisen deutlich das Natürliche dieser Erscheinung. Daß wir im einzelnen an der Synapsis verschiedene Ausbildungszustände unterscheiden können, ist aus den Figuren 4, 5, 6 u. 7 ersichtlich; zugleich scheint mir aus ihnen auch mit aller Deutlichkeit hervorzugehen, daß wir getrennte Chromosomen vor uns haben, denn eine Figur, wie Fig. 6, läßt sich nicht in einem andern Sinne deuten; wohl könnte man an ein einheitliches Spirem denken, wenn man bloß Fig. 5 und 7 betrachtete, aber auch hier sind die freien Enden bei genauerer Betrachtung unverkennbar. An besonders günstig gefärbten Eiern (Fig. 5) tritt die Längsspaltung der Fäden, die in den vorigen Stadien nie einwandfrei zur Beobachtung gelangte, jetzt während der Synapsis gut zutage. Der Nucleolus befindet sich fast immer mitten im Synapsisknäuel und nur in vereinzelten Fällen liegt er auf der im übrigen chromatinfreien Kernseite.

Über den Platz, an den die in Fig. 3 und 8 abgebildeten Eier in der Reihenfolge der Reifungsstadien zu stellen wären, kann man einigermaßen im Zweifel sein; mir scheint aber die relativ geringe Größe des Plasmakörpers und die scharf begrenzte Form der Chromosomen darauf hinzuweisen, daß Fig. 3 ein präsynaptisches Stadium darstellt und daher zwischen Fig. 2 und Fig. 4 einzureihen ist; in Fig. 8 spricht wiederum die ansehnliche Größe der Zelle und die ausgesprochen parallele Lagerung je zweier fädiger Chromatinelemente, deren Anfang wir im Längsspalt des synaptischen Knäuels beobachteten, für den postsynaptischen Charakter dieses Bildes.

Auf dieses soeben beschriebene Stadium der dicken Chromatinfäden, mit eingeschalteter Synapsis folgt die eigentliche Wachstumsperiode des Eies, während welcher große Mengen von Nährsubstanz aufgenommen und in Dotter umgewandelt werden. Das Chromatin bleibt während dieser ganzen Zeit in Fadenform erhalten, wenn auch die Chromosomen als einzelne Elemente nicht immer nachzuweisen sind; ich verweise jedoch auf Figur 10, die die langen dünnen, parallel laufenden oder auch umeinander gewickelten Chromosomen vortrefflich zeigt. Es lassen sich aber in keinem Kern dieses Stadiums alle Chromosomen feststellen, da sie zu langen dünnen Fäden wieder umgebildet sind, sodaß der Kern das Ansehen eines »Ruhekerns« besitzt; es ist bekannt, daß dieses »Ruhestadium« gerade als Zeit des lebhaftesten Stoffwechsels zu betrachten ist, womit der zu dieser Zeit sich abspielende Prozeß der Dotterbildung gut zusammenstimmt. Die Schicksale von Kern und Plasma während dieser Periode sind im Kapitel über den Dotterkern ausführlich besprochen, sodaß ich hier mich darauf beschränken kann, das unver-

änderte Fortbestehen des Chromatinfadenwerks im ganzen Kernraum zu konstatieren.

Ähnliche Verhältnisse während der Wachstumsperiode der Oocyten haben Schleip (1906 und 1908) für die Planarien und Ostracoden, Kühn (1908) für Cladoceren beschrieben; auch in der Entwicklung der extrem großen Spermatocyten von *Notodromas monacha* liegt ein gleiches Stadium mit im Kern verteiltem Chromatin vor (Schleip 1908).

Erst wenn mit dem Schluß der Dotterkernauflösung die Streckung der bis dahin annähernd sphärischen oder leicht polygonalen Eizelle einsetzt, gehen mit dem Chromatin Veränderungen vor sich: die blassen Fäden des Ruhestadiums verdichten sich, indem sie sich anfangs an einzelnen Stellen, dann in ihrem ganzen Verlauf dunkel färben (Fig. 11). Es fragt sich, wie der an den stark verkürzten Chromosomen nun auftretende Längsspalt zu beurteilen ist: entspricht ein solches längsgespaltenes Chromosom der Fig. 11 etwa den beiden langen, einander parallel laufenden Chromosomen der Fig. 10, nur daß der Längsspalt jetzt weniger breit ist? oder haben wir die Sache so aufzufassen, daß aus einem Chromosom der Fig. 10 durch Längsspaltung und Verkürzung ein Chromosom mit Längsspalt der Fig. 11 hervorging? Das festzustellen wäre wichtig zur Entscheidung der Frage, wie die Reduktion der Chromosomenzahl verläuft, es läßt sich aber aus meinen Präparaten nichts entnehmen, was das eine oder das andere bewiese.

Auch über die Reifungsteilungen selber bin ich nicht imstande sichere Daten zu geben, da ich die erste derselben in meinen Schnitten vollkommen vermißte; immerhin möchte ich auf die Fig. 13 und 14a, b verweisen: die erste stellt eine Äquatorialplatte aus den Furchungszellen dar mit deutlichen 8 Chromosomen; Fig. 14a und b sind zwei aufeinanderfolgende Schnitte durch ein Ei, in dem der erste Richtungskörper schon gebildet ist (1. Rk.) und wo wir bei Kombination der beiden Schnitte zwanglos auf die Zahl von 4 Chromosomen kommen, die sich — dem Längsspalt nach zu urteilen — in der Prophase der 2. Reifungsteilung befinden. Auch auf die schön ausgeprägten Karyomeren möchte ich bei dieser Figur aufmerksam machen.

II. Der Dotterkern in den Eiern von Echinorhynchus proteus.

Ein Organ, das ich auf einer bestimmten Entwicklungsstufe der von mir untersuchten Acanthocephaleneier nie vermißt habe, ist der Dotterkern. Wenn der Synapsisknäuel des Kernes sich eben zu entwirren beginnt, oder aber ein wenig später sehen wir im Plasma der Eizelle, etwa auf der Mitte zwischen Kern und Eimembran, ein oder zwei Körper-

chen auftreten, die sich mit Bismarckbraun und Safranin stark färben und glänzende (d. h. stark lichtbrechende), unregelmäßig begrenzte Körnchen darstellen; vom übrigen Plasma heben sie sich infolge dieser Eigenschaften scharf ab (Textfig. 1)[1]. Es ist für die Frage nach der Herkunft dieser Gebilde nicht unwesentlich zu betonen, daß weder der Nucleolus noch das Chromatin der Chromosomen eine annähernd gleich

Textfig. 1.



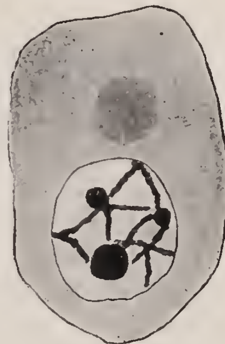
Textfig. 2.



starke Affinität zu den zwei oben erwähnten Farbstoffen besitzt, daß beide Kernanteile aber das Hämatoxylin der Heidenhainschen Färbung begierig speicherten, während dieses wiederum auf die Anfänge des Dotterkerns ohne erkennbare Wirkung blieb.

Ebenso läßt sich auch das folgende Stadium der Entwicklung dieses Organs nur auf solchen Schnitten feststellen, die mit Bismarckbraun oder Safranin tingiert sind. Die Lage in bezug auf Kern und Eimembran ist dieselbe geblieben, aber Gestalt und Aussehen haben sich stark verändert (Textfig. 2): während wir vorher bloß ein oder zwei chromatophile Körperchen im Plasma liegen sahen, finden wir jetzt für gewöhnlich zwei Gruppen von je zwei oder drei größeren solchen Körperchen, und jede dieser Gruppen ist nicht direkt ins allgemeine Plasma eingebettet, sondern hat sich mit einem Hof von dunklerer, homogener Substanz umgeben. Der Kern ist jetzt schon deutlich auf die eine Seite der Zelle gedrängt und hat eine Stellung eingenommen, die er während der ganzen Wachstumsperiode der Eizelle beibehält; der entgegengesetzte Pol enthält ein Plasma von feinkörniger Struktur.

Textfig. 3.



---

[1]) Die Textfiguren sind sämtlich mit Zeiss Imm. 1,5 u. Comp. Oc. 12 bei 160 mm Tubuslänge mit Hilfe des Abbeschen Zeichenapparats auf Objekttischhöhe entworfen.

Die Entwicklung läßt sich nun auch an Eisenhämatoxylinpräparaten weiter verfolgen; nach einem solchen ist auch Textfig. 3 entworfen: wir sehen jetzt ganz regelmäßig einen kugligen, homogenen Körper an der Stelle liegen, wo vorher die beiden Körnchengruppen mit ihren Plasmahöfen sich befanden, und alles scheint mir darauf hinzudeuten, daß eine Verschmelzung derselben stattgefunden hat. Die färberischen Eigenschaften stellen sich an diesem »Dotterkern« folgendermaßen dar: bei Anwendung von Pikrokarmin-Hämalaun tingiert er sich rot bis leicht violett und ist außerordentlich schön sichtbar; als weniger günstig erweisen sich Bordeauxrot und Safranin, die keine distinkte Verschiedenheit in der Färbung von Protoplasma und Dotterkern bewirken, Bismarckbraun ergibt ähnliche Resultate, wie bei den Plasmahöfen des vorigen

Textfig. 4.



Textfig. 5.



Stadiums, nicht ganz so intensiv ist die Färbung hier, aber der Vorteil dieses Farbstoffs liegt wiederum in der Sichtbarmachung von stark lichtbrechenden, chromatophilen Körnern, die aber nicht mehr im Innern des verdichteten Plasmas liegen, sondern an seiner Oberfläche neu aufgetreten sind (Textfig. 4).

Ein verbindendes Glied zwischen diesem und dem nächsten Stadium stellt Textfig. 5 dar: der Dotterkern hat an Größe zugenommen und sich bis dicht an das Keimbläschen ausgebreitet, dabei aber seine nahezu sphärische Gestalt gewahrt; der Eikern plattet sich an der dem Dotterkern gegenüberliegenden Seite ab, sein Nucleolus liegt exzentrisch und zwar vom Dotterkern entfernt. Das Plasma zeigt, außer in ihm verstreuten chromatophilen Körperchen, allerdings selten eine beginnende Vacuolenbildung und eine gröbere Struktur als bisher; jedoch findet sich dieses alles in ausgesprochener Form, wie wir sehen werden, erst in den beiden nächsten Stadien.

Das Wachstum des Dotterkerns muß um diese Zeit besonders rapid sein, denn die eben beschriebene Stufe seiner Entwicklung kommt nur verhältnismäßig selten zur Beobachtung, während das folgende Stadium fast in jeder Ovarialscheibe an Dutzenden von Eiern zu finden ist; ein Blick auf die Abbildung einer solchen ganzen Scheibe (Fig. 15) überzeugt uns von der Richtigkeit dieser Behauptung. Der Dotterkern hat, wie gesagt, an Umfang stark zugenommen und liegt nun mit seinem dem Innern der Eizelle zugekehrten Rande der Kernmembran dicht an; sein strukturelles Aussehen ist das gleiche wie vorhin, und er unterscheidet sich in seinen Farbreaktionen nur insofern vom letzten Stadium, als die mehrerwähnten stark chromatophilen Körperchen jetzt auch das Eisenhämatoxylin in reichlicher Menge speichern und auch auf Bildern nach solchen Präparaten dieselbe periphere Lage am Dotterkernrande zeigen. Es treten aber jetzt ähnliche Körner auch im übrigen Plasma, unabhängig vom Dotterkern regelmäßig auf, fürs erste in geringer Größe, um dann im nächsten Stadium ihre stärkste Ausbildung zu erfahren. Der Eikern hat durch den heranwachsenden Dotterkern eine Gestaltsveränderung erfahren: seine demselben anliegende Seite ist deutlich abgeplattet (Textfig. 6), und der Nucleolus, der bis dahin ganz regellos bald hier, bald dort im Eikern lag, rückt nun in die Nachbarschaft des anliegenden Dotterkerns, nimmt auch nicht selten eine schwach gekrümmte Gestalt an und kehrt die konkave Seite stets dem Dotterkern zu.

Textfig. 6.



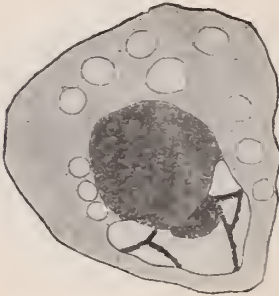
Auf dieser Stufe treten im Plasma, dem Außenrande der Eizelle genähert, die ersten Vacuolen auf, die auf den Schnitten als helle Lücken sich darstellen.

Im nächsten Stadium erreicht der Dotterkern seine maximale Größe und übertrifft zu dieser Zeit den Eikern nicht selten an Umfang (Textfiguren 7 u. 9a). Die Lagebeziehung zwischen beiden kann hier ein zweifache sein: entweder hat sich das Keimbläschen wie eine Haube über den Dotterkern gelegt und umfaßt ihn wie mit breiten Pseudopodien, oder aber der Eikern schickt einen zungenförmigen Fortsatz ins Innere des Dotterkerns, sodaß dieser nun ausgebuchtet erscheint. Beide Modi der Aneinanderlagerung bezwecken und erreichen dasselbe: ein möglichst großer Teil der Kernoberfläche kommt mit dem Dotterkern in Berührung und ein um so reicherer Stoffwechsel ist ermöglicht.

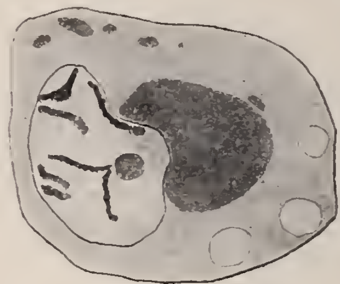
Auch die chromatophilen Körperchen sind nun von ansehnlicher Größe; das gewöhnliche Bild zeigt Textfig. 8; welche extremen Dimensionen sie aber annehmen können, läßt sich aus Textfig. 9a u. b entnehmen; sie ist nach einem Bismarckbraunpräparat gezeichnet, daher ist das Chromosomennetzwerk in der Abbildung nur halbschematisch angegeben; in jeder der beiden Eizellen finden wir außer dem Dotterkern von gewaltigem Umfang auch noch drei dunkler gefärbte Körper, d. h. extrem große chromatophile Körner, die teils am Dotterkern, teils frei im Plasma liegen und eines, das den Eikern in ähnlicher Weise berührt, wie der Dotterkern selber, ohne aber mit diesem letzteren in Verbindung zu stehen.

Ob ich es auf die Bismarckbraunfärbung schieben darf, daß in den beiden eben besprochenen Zellen noch keine Vacuolen zu sehen sind,

Textfig. 7.



Textfig. 8.



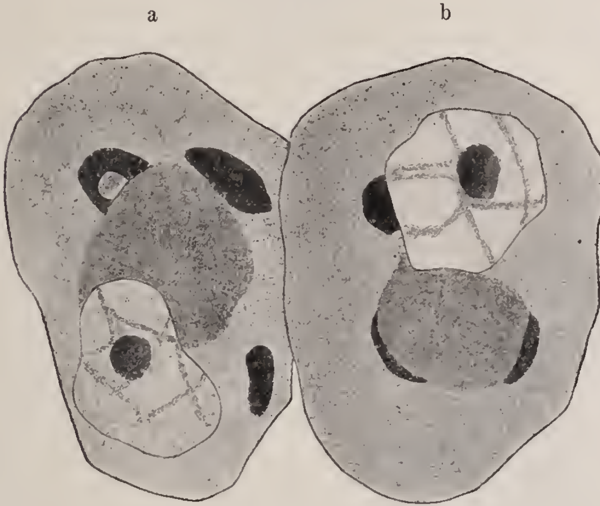
weiß ich nicht; diese sind nämlich in anders gefärbten (Pikrokarmin-Hämalaun oder Eisenhämatoxylin) Schnitten regelmäßig in größerer Anzahl zu beobachten; die eine Vacuole, die auf Textfig. 9a zwischen dem chromatophilen Körper und der Dotterkernsubstanz zu sehen ist, läßt mich vermuten, daß die Bildung der diese Vacuolen erfüllenden Flüssigkeit in diesen Zellen soeben erst begonnen hat.

Das Plasma der Eizelle, das bis dahin seine feinkörnige Struktur bewahrt hatte, zeigt jetzt eine gröbere, netzige oder alveoläre Struktur; doch ist der Übergang von der einen zur andern Form ein so allmählicher, daß ich weder einen Zeitpunkt, noch eine Entwicklungsstufe der Dotterkernsubstanz angeben kann, die mit der Veränderung des Plasmas direkt in Zusammenhang zu setzen und ihr zu parallelisieren wäre.

Vom Nucleolus sollte ich vielleicht noch erwähnen, daß er häufig ganz an die Kernwand heranrückt, sich ihr entsprechend abplattet und so vom Dotterkern bloß durch die dünne Kernmembran geschieden ist.

Im weiteren folgt nun die Auflösung der Dotterkernsubstanz. Die Anfänge derselben fallen wohl mit dem Stadium der maximalen Größe

Textfig. 9.



zusammen, da zu dieser Zeit die starke Secretbildung, wie wir gesehen haben, einsetzte. Die Eizelle hat jetzt in ihrer Entwicklung den Zeitpunkt erreicht, wo die Vorbereitungen zur ersten Reifungsteilung vor sich gehen: diese treten zunächst an der ganzen Zelle zutage, indem sich das bis dahin ovale oder von den Nachbarzellen polygonal abgeplattete Ei zu strecken beginnt und zuerst die auf Textfig. 10 dargestellte Form annimmt, wo der Kern noch am einen Pol liegt und die Gestaltsveränderung eigentlich nur in einer schwachen Längsstreckung besteht; dann aber folgt die Ausbildung der endgültigen schmalen Spindelform des reifen Eies, mit central gelegenem Kern (Textfig. 11). Auch im Kern selber erfolgen Veränderungen der Chromatin-

Textfig. 10.



anordnung, die schließlich zur Ausbildung der Chromosomen der ersten Reifungsspindel führen; meist finden wir neben dem großen Nucleolus nun auch noch mehrere kleine auf diesem Stadium (Textfig. 10, 11). Zu gleicher Zeit hat sich am Dotterkern folgendes vollzogen: wir sahen, daß auf dem Maximalstadium häufig »einige Dotterkerne« beobachtbar waren, wenn wir die großen chromatophilen Körper auch als solche bezeichnen wollen; dementsprechend finden wir auch mehrere »Dotterkerne« in Auflösung begriffen, bald einen am Kern liegenden, bald frei im Plasma schwimmende; meist sind sie von einem Hof von dichterem Plasma umgeben (Textfig. 11) oder sie sind in eine Vacuole zu liegen gekommen (Textfig. 10)[1], wenn ich den hellen Raum um den stark zusammengeschmolzenen Dotterkern als Vacuole deuten darf und kein Kunstprodukt, entstanden durch Zurückziehung des Plasmas, vorliegt. Daß der am Kern liegende Rest (Textfig. 11) nicht etwa ein bloßer Anschnitt des Dotterkerns ist, sondern seine wirkliche Größe zeigt, dafür spricht der Umstand, daß ich in diesen gestreckten Eizellen wohl solche halbmondförmige Reste, nie aber einen großen kugligen Dotterkern gesehen habe.

Textfig. 11.



Das Plasma der Eizelle ist, besonders im letzten Stadium, grobwabig, zeigt aber auffallenderweise entweder gar keine Vacuolen, oder nur eine große, an der Zellwand gelegene.

Leider habe ich unter meinem Material keine ersten Reifungsteilungen finden können, aber es ist wohl durchaus anzunehmen, daß auf diesem Stadium Reste eines Dotterkerns sicher nicht mehr zu finden sind, da in der großen Mehrzahl der gestreckten Eizellen, die aber noch die Kernmembran gut erhalten zeigten, ein solcher nicht mehr festzustellen war; Textfig. 11 stellt eine recht seltene Ausnahme dar.

[1]) Leider kommt das in der Textfigur nicht deutlich genug zum Ausdruck.

Seit der ersten Mitteilung von Wittichs über eine »granuläre Masse« im Plasma des Spinneneies, die im Jahre 1845 erschien, ist eine geradezu unerschöpfliche Menge von Einzelbeobachtungen veröffentlicht worden, die alle über ähnliche Gebilde im reifenden Ei handelten. Die gebräuchlichsten Namen, die für diese Zellbestandteile in Anwendung kamen, waren von jeher »Dotterkern« und »vesicule de Balbiani« (yolk-nucleus, noyeau vitellin, corps vitellin). So wenig es an Beschreibungen fehlt, so wenig vermißt man auch die verschiedensten Angaben über Ursprung, Vergehen, morphologische und physiologische Bedeutung des Dotterkerns, aber zu einer befriedigenden Lösung aller dieser Fragen sind wir bis heute noch nicht gelangt und können daher auch heute noch mit einem gewissen Recht mit den Forschern der 80-er Jahre des vorigen Jahrhunderts vom Dotterkern als von einem »corps énigmatique«, einem »rätselhaften Körper« sprechen.

Die Literatur über diesen Gegenstand finde ich für die Zeit bis zum Jahre 1899 verschiedentlich zusammengestellt und besprochen; so bei Henneguy (1893), van Bambeke (1898) und Crampton (1899); ich kann füglich eine genauere Auseinandersetzung vermeiden und mich auf die Darlegung der wichtigsten Arbeiten und Ansichten beschränken, wobei ich die der neueren Zeit (seit (1899) besonders hervorheben will.

Als einen der ersten will ich Balbiani nennen, der im Jahre 1893 einerseits auf Grund langjähriger Untersuchungen an Myriopoden- und Spinneneiern, anderseits aber durch Vergleich mit den Mitteilungen anderer Forscher über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen bei verschiedenen Tieren, zu einer weitgehenden »Homo- und Analogisierung« des Dotterkerns in den Eizellen und des Centrosoms in den Somazellen, bzw. des »Nebenkerns« in den Spermazellen kam: sie haben vor allem die Wirkung auf das umgebende Protoplasma gemein, wodurch sich beim einen der Mantel von dichtem Plasma, beim andern die sog. Attraktionssphäre bildet; auch spricht die in manchen Fällen zu beobachtende Doppelnatur des Dotterkerns für den Vergleich mit dem zu Zeiten sich teilenden Centrosoma; ja, der betr. Forscher spricht es geradezu aus, daß der Dotterkern als »durch Inaktivität und folgende Hypertrophie degeneriertes Centrosom« zu betrachten sei. Entstehen läßt er ihn als Abschnürung des Eikerns.

Eine etwas andere Ansicht hegt Henneguy (1893) über dieses Organ in den Eiern der Wirbeltiere: wiewohl es auch nach ihm aus dem Keimbläschen hervorgehen soll, so macht er doch direkt die Nucleolarsubstanz für seine Entstehung verantwortlich, mit der es die gleichen Farbreaktionen teilt. Beide: Nucleolarsubstanz und Dotterkern stellen ein Ho-

mologon des Makronucleus der Infusorien dar, stehen also den vegetativen Prozessen der Eizelle vor. In einer kurzen Fußnote weist übrigens auch er auf das Naheliegende des Vergleichs mit dem »Nebenkern« der männlichen Zellen hin.

van Bambeke (1895) beschreibt bei den Eizellen von *Scorpaena scrofa* den Austritt geformter chromatischer Bestandteile aus dem Kern ins Plasma und meint, daß aus ihnen vermutlich der Dotterkern hervorgeht, da sie im Innern eines verdichteten Plasmas liegen. An einem andern Objekte, einer Spinne: *Pholcus phalangoides*, beobachtet v. Bambeke (1898) das Auftreten einer Granulation am Kern, die abrückt und zum hufeisenförmigen Dotterkern heranwächst; die Auflösung erfolgt durch Zerfall und fettige Degeneration.

Zum Unterschied von sämtlichen bisher genannten Beobachtern beschreibt Jordan (1893) in den Eiern von *Diemyctylus* die Entstehung mehrerer (bis 9) Dotterkerne als Verdichtungen des Cytoplasmas; sie gehen späterhin auch wieder im Plasma zugrunde, wobei aber eine Mitwirkung des Kernes nicht direkt von der Hand zu weisen ist.

Nach Foot (1896) liegen bei *Allobophora*, einem Oligochaeten, die ersten Anfänge des Dotterkerns im Cytoplasma, dicht am Kern, und unterscheiden sich von allen übrigen Bestandteilen der Zelle durch ihre ausgesprochen andersartige Färbung; beim Heranwachsen kann sich die Dotterkernsubstanz im ganzen Plasma verteilen oder auch nur peripher angeordnet sein; späterhin tritt sie in deutliche Beziehung zu den Attraktionssphären der ersten Furchungsspindel, während sie mit der Dotterbildung in keinem Zusammenhang zu stehen scheint.

Mertens (1895) ist nach seinen Befunden an Vögeln und Säugetieren für die Herleitung des in Frage stehenden Organs von den Chromosomen des Kernes, gibt aber selber in seinen Figuren keinerlei Bilder, die dem Beschauer das wahrscheinlich machten.

In seiner vorläufigen Mitteilung erwähnt Némec (1897) bei Diplopoden die extranucleäre Entstehung aus einer Granulation am Kern, die sich teilt und einerseits den als »Haube« beschriebenen Dotterkern, anderseits die vom Verf. sogenannte »Sphäre« liefert.

Von der neueren Literatur wäre zunächst die Arbeit von Woltereck (1899) zu erwähnen, in welcher auf den Dotterkern im Ostracoden-Ei Bezug genommen ist; und zwar haben wir es hier nach Woltereck, mit einem »echten« Dotterkern zu tun, der in keinem Zusammenhang mit den Zentralkörpern steht, sondern lediglich ein »nicht strukturiertes Stoffwechselprodukt« darstellt, das wohl von der Nucleolarsubstanz herzuleiten ist.

Anders sieht SCHLEIP (1908) auf don Dotterkern im Ei der Ostracoden: auf Grund des Entstehens der Dotterkernfäden bei *Notodromas* dicht unter der Oberfläche des Eies glaubt er sich für die Bildung derselben aus von außen aufgenommener Substanz entscheiden zu müssen, um so mehr als nach KÜHN (1908) bei Resorption der Nährzellen im Cladocerenei ähnlich gefärbte Schollen auftreten.

Von einer andern Seite nimmt CRAMPTON (1899) die Dotterkernfrage am Ei von *Molgula* in Angriff: er sucht durch verschiedene Färbemethoden und künstliche Verdauung durch Pepsinlösungen die chemische Zusammensetzung dieses Organs festzustellen und kommt zum Schluß, daß es ein Albuminkörper sei, der »perfectly agrees with the albomineous constituents of the nucleus«; er stammt daher vom Kern ab oder ist wenigstens unter seinem direkten Einfluß entstanden.

Für KOHLBRUGGE (1901) gibt es — trotz der vielen gründlichen Untersuchungen, die damals schon vorlagen — bloß eine »Sage vom Dotterkern«.

In den Arbeiten von GOLDSCHMIDT finde ich den Dotterkern mehrfach erwähnt, vor allem in der »Embryonalentwicklung des *Zoogonus mirus*« (1905); er entsteht im reifenden Ei zunächst in Gestalt von quasi »ausgeschwitzten« chromatischen Partikeln an der Oberfläche des Kernes, die erst zu einigen größeren Brocken, dann zu einem einheitlichen Dotterkern zusammenfließen; im Innern desselben läßt sich häufig ein dunkler tingierter Kern, der noch von einem hellen Raum umgeben sein kann, wahrnehmen. Wir haben, nach GOLDSCHMIDT, dieses Verhalten als einen Beweis für die Doppelnatur des Zellkerns zu betrachten, der aus einem somatischen und einem propagatorischen Teil besteht; der erste tritt bei der Dotterkernbildung aus dem »Amphinucleus« aus und spielt bei der nun folgenden Dotterbildung in der Eizelle eine hervorragende Rolle.

Auch bei der Eireife von *Dicrocoelium lanceatum* stellt GOLDSCHMIDT (1908) einen Dotterkern fest, ohne jedoch auf seine Entstehung und Bedeutung weiter einzugehen.

Am Ei einer Tunicate (*Distalpia*) hat BANCROFT (1899) die Bildung eines Dotterkerns als eines homogenen Mantels rings um den Kern beschrieben, wobei aber aus dem letzten geformte Bestandteile nicht austreten [ich zitiere nach LUBOSCH (1902)].

Von all den erwähnten Untersuchungen kann ich nur die von JORDAN (1893) an *Diemyctylus* und die von SCHLEIP (1908) an Ostracoden mit meinen eigenen in direkte Parallele bringen; für die Eier jenes Amphibiums, jener Crustaceen, und für die des *Echinorhynchus* ist wohl die

Entstehung des Dotterkerns im Cytoplasma die einzig mögliche Deutung der Beobachtungen: in allen drei Fällen haben wir es mit echten Dotterkernen, im Sinne von WOLTERECK, zu tun. Für die Bildung dieses Organs aus von außen aufgenommenen und nicht aus vom Kern ausgeschiedener Substanz spricht erstens seine Lage: schon kurz nach der Entstehung der ersten Anlage sehen wir deutlich zwei Pole am Ei unterschieden (Textfig. 3), an deren einem das Keimbläschen, an deren anderem der Dotterkern gelagert erscheint; diese Bipolarität prägt sich während des Wachstums des Dotterkerns noch deutlicher aus, und man fragt sich vergeblich nach dem Grunde, weswegen ein nucleäres Ausscheidungsprodukt erst in dieser Entfernung von der Kernmembran in diese Erscheinungsform übergeführt wird, weswegen der Kern möglichst fern vom Bildungsherde abrückt; handelt es sich aber um extrazelluläres Nahrungsmaterial, das durch die Zellwand in flüssigem Zustand eingewandert ist, so liegt es nahe, anzunehmen, daß die Verfestigung erst in einer bestimmten Entfernung vom Kern vor sich gehen kann; denn daß dieser eine wichtige Rolle bei diesem Prozesse spielt, bin ich weit entfernt bestreiten zu wollen und glaube im Gegenteil, daß er, durch Lieferung von Enzymen etwa, das Ausfallen des eingeführten Stoffes in Gestalt der Dotterkernsubstanz bewirkt.

Dieser Annahme einer extranucleären Entstehung treten einige Schwierigkeiten in folgendem entgegen: die »bipolaren« Eier sind in der Ovarialscheibe verschieden gelagert, indem sie der Peripherie bald den Keimbläschenpol, bald den Dotterkernpol zukehren, bald auch in querer Lage beide Pole gleichweit vom Außenrande der Ovarialscheibe entfernt zeigen. Die erste Lage ist die häufigste (vgl. Fig. 15) und es stimmt schlecht mit unserer obigen Annahme, daß die aus der Leibeshöhle eindringende Nährflüssigkeit erst auf der andern Seite des Kernes sich in Dotterkernsubstanz verwandelt. Da aber die Lagerung, wie gesagt, eine außerordentlich wechselnde ist, so kann ich diesem Umstande keine prinzipielle Bedeutung zumessen.

Noch ein anderes: das Austreten geformter Bestandteile aus dem Kern muß hier Erwähnung finden; im Plasma einiger Eier ließen sich nämlich dunkelgefärbte, Chromosomenteilstücken nicht unähnliche kurze Bänder konstatieren (Fig. 12); weil das jedoch unter den Tausenden von Eiern vielleicht drei -oder viermal bloß zur Beobachtung kam, glaube ich es mit Recht als Kunstprodukt bezeichnen zu können, entstanden durch Herausreißen des Chromatins beim Schneiden.

Der Dotterkern hat seine maximale Größe erreicht, wenn er mit der Peripherie des Kernes in Berührung tritt, und ohne daß man das eine

Stadium vom andern eigentlich trennen könnte, folgt nun seine Auflösung, deren Beginn mit dem Auftreten der Sekretvacuolen zusammenfällt. Daß hier bei der »Desintegration« der Kern in stark aktiver Form eingreift, scheint mir im Gegensatz zu Jordan, der von einer »desintegration in the cytoplasm« spricht — recht augenfällig zu sein: schon bei der Beschreibung der Vorgänge erwähnte ich die innige Aneinanderlagerung der beiden Zellorgane und möchte hier nur noch das Verhalten des Nucleolus schildern, der bis dahin an einer indifferenten Kernstelle gelagert, nun *fast regelmäßig* dicht an den Dotterkern heranrückt oder wenigstens in dessen Nähe zu liegen kommt. Er ist ja schon häufig zu den Stoffwechselvorgängen der Zelle in nähere Beziehung gebracht worden und sein Verhalten an dieser Stelle scheint mir ein Gleiches darzutun; auch ist es auffällig, daß meist zugleich mit der endgültigen Auflösung des Dotterkerns auch der Nucleolus zu zerfallen beginnt.

Ich stelle mir also die Bedeutung des Dotterkerns bei den Acanthocephalen so vor: von außen aufgenommenes Material wird, so viel als möglich, sofort in Plasma umgewandelt; darauf deutet das starke Wachstum der Eizelle noch während der Ausbildung des Dotterkerns hin; außerdem wird aber der nicht gleich zu bewältigende Überschuß in Form eines Reservelagers deponiert, um, wenn die Aufnahme von außen aufhört, d. h. wenn die Zelle ihre maximale Größe erreicht hat, in flüssige Dottersubstanz übergeführt zu werden; das ist der Fall kurz vor den Reifungsteilungen, wenn die Zelle sich zu strecken beginnt, denn bei den folgenden Furchungsteilungen kann nur ein flüssiges Material gleichmäßig zur Verteilung gelangen. Zur Ernährung des Kernes wird der Dotterkern wohl nur in allergeringstem Maße verwandt, denn das Keimbläschen nimmt vom Stadium der Maximalgröße bis zur Auflösung des Dotterkerns kaum an Umfang zu.

III. Degenerationserscheinungen.

In den meisten Ovarialscheiben findet man Eizellen, die dadurch auffallen, daß eine unverhältnismäßig große sphärische chromatophile Masse in ihrem Innern ruht; an diesem mit Eisenhämatoxylin sich intensiv schwärzenden Fleck sind diese Eizellen in Degeneration (denn darum handelt es sich hier) auch schon bei schwacher Vergrößerung sofort zu erkennen. Betrachten wir sie genauer, so finden wir, daß die Kernmembran in ihnen fehlt (Fig. 18); die Chromosomen liegen im Plasma verstreut und der Nucleolus, der riesenhafte Dimensionen angenommen hat, stellt eben jenen auffallenden Fleck dar; er scheint das gesamte Chro-

matin des Kernes in sich aufzunehmen, wenigstens liegt diese Deutung der vorliegenden Bilder nahe: die auf der ersten Stufe der Degeneration noch bandförmigen Chromosomen runden sich zu sphärischen Körpern ab (Fig. 19), die teils im Plasma, teils dicht am Nucleolus liegen, teilweise aber auch schon mit ihm zu verschmelzen beginnen.

Das Plasma der degenerierenden Zellen zeigt außer einigen großen Vacuolen weiter keine Besonderheiten. Ob und wie diese Zellen vielleicht zur Ernährung der übrigen dienen, weiß ich nicht zu sagen, doch kann von etwas Regelmäßigem hier nicht die Rede sein, da auf die Gesamtzahl der eine Ovarialscheibe bildenden Oocyten höchstens 3 bis 4 degenerierende kommen. Hinzufügen will ich noch, daß die Degeneration auf einem beliebigen Stadium der Eientwicklung einsetzen kann, wie das auch sonst zu sein pflegt.

Auch ganze Ovarialscheiben können durch Degeneration zugrunde gehen, und fast in jedem Tier, das ich geschnitten, fand ich solche. Figg. 16 und 17 repräsentieren zwei aufeinanderfolgende Stadien: im ersten kann man an einer Reihe von Eiern noch ihre ursprüngliche Gestalt wahrnehmen, allerdings ist auch in ihnen die Kernmembran schon geschwunden und das Plasma bildet eine homogene Masse; der ganze Rest der Ovarialscheibe besteht aus strukturlosem Plasma, in dem hie und da große Nucleolen und Überreste der Chromosomen liegen. Bei fortgeschrittener Degeneration stellt die ganze Ovarialscheibe solch eine Masse dar, in der alles Chromatin außer dem der Nucleolen verschwunden und die von zahlreichen kleinen und größeren Vacuolen durchsetzt ist.

Zum Schluß sei es mir gestattet, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Weismann für den Hinweis auf das vorliegende Thema meinen herzlichen Dank auszusprechen; ebenso bin ich den Assistenten am hiesigen Institut, den Herren Privatdozenten Dr. Schleip und Dr. Kühn für ihre mannigfachen Ratschläge zu aufrichtigem Dank verpflichtet.

Freiburg i. Br., 2. Mai 1910.

Literaturverzeichnis.

Auerbach, Leop., 1896. Untersuchungen über die Spermatogenese von Paludina vivipara. Jenaische Ztschr., Bd. XXX.

Balbiani, E. G., 1893. Centrosome et »Dotterkern« Journ. de l'Anat. et de la Phys., T. XXIX.

Bambeke, Ch. van, 1895. Elimination d'éléments nucléaires dans l'œuf de Scorpaena scrofa. Archives de Biologie, T. XIII.

BAMBEKE, CH. VAN, 1898. Recherches sur l'oocyte de Pholcus phalangoides. Archives de Biologie, T. XV.

BANCROFT, FRANK W., 1899. Ovogenesis in Distalpia occidentalis Ritter. Bulletin of the Museum of Comp. Zoology, Vol. V.

CRAMPTON, H. E., 1899. Studies upon the early history of the Ascidian egg. Part. I. Journ. of Morphology, Vol. XV Suppl.

FOOT, K., 1896. Yolk-nucleus ana Polar-Rings. Journ. of Morphology, Vol. XII.

GOLDSCHMIDT, R., 1905. Eireifung, Befruchtung und Embryonalentwicklung des Zoogonus mirus Lss. Zool. Jahrb. Anat., Bd. XXI.

—— 1908. Über das Verhalten des Chromatins bei der Eireifung und Befruchtung des Dicrocoelium lanceatum Stil et Hass. (Distomum lanceolatum). Arch. f. Zellforschung, Bd. I.

—— 1908. Die Chromatinreifung der Geschlechtszellen des Zoogonus mirus Lss. und der Primärtypus der Reduktion. Arch. f. Zellforschung, Bd. II.

HÄCKER, V., 1907. Die Chromosomen als angenommene Vererbungsträger. Ergebnisse u. Fortschr. d. Zool., Bd. I.

HAMANN, O., 1891. Monographie der Acanthocephalen. Jen. Ztschrft., Bd. XXV.

HENNEGUY, L. T., 1893. Le corps vitellin de Balbiani dans l'œuf des vertébrés. Journ. de l'Anat. et de la Phys., T. XXIX.

JORDAN, E. O., 1893. Habits and Development of the Newt (Diemyctylus viridescens). Journ. of Morphology, Vol. VIII.

KAISER, JOH. E., 1890—92. Die Acanthocephalen und ihre Entwicklung. Bibliotheca Zoologica, Bd. II.

KOHLBRUGGE, 1901. Die Entwicklung des Eies vom Primordialstadium bis zur Befruchtung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LVIII.

KÜHN, ALFR., 1908. Die Entwicklung der Keimzellen in den parthenogenetischen Generationen der Cladoceren Daphnia pulex De Geer und Polyphemus pediculus De Geer. Arch. f. Zellforschung, Bd. I.

MERTENS, H., 1895. Recherches sur la signification du corps vitellin de Balbiani dans l'ovule des mammifères et des oiseaux. Archives de Biologie, T. XIII.

NÉMEC, B., 1897. Über die Struktur der Diplopoden-Eier. Anat. Anz., Bd. XIII.

SCHLEIP, W., 1906. Die Entwicklung der Chromosomen im Ei von Planaria gonocephala. Zool. Jahrb. Anat., Bd. XXIII.

—— 1908. Vergleichende Untersuchung der Eireifung bei parthenogenetisch und bei geschlechtlich sich fortpflanzenden Ostracoden. Arch. f. Zellforschung, Bd. II.

SCHREINER, A. u. K. E., 1905. Neue Studien über die Chromatinreifung der Geschlechtszellen. I. Die Reifung der männlichen Geschlechtszellen von Tomopteris onisciformis, Eschholtz. Archives de Biologie., T. XXII.

—— 1906. III. Die Reifung der Geschlechtszellen von Ophryotrocha puerilis Clprd.-Mecz. Anatom. Anz., Bd. XXIX.

—— 1908. V. Die Reifung der Geschlechtszellen des Zoogonus mirus Lss. Videnskabs-Selsk. Skr. I. Math.-Nat. Kl. 1908. No. 8 Christiania.

WOLTERECK, R., 1898. Zur Bildung und Entwicklung des Ostracoden-Eies. Ztschr. f. wiss. Zool., Bd. LXIV.

WINIWARTER, H. v., 1901. Recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des Mammifères. Archives de Biologie, T. XVII.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XXIII.

Sämtliche Figuren sind gezeichnet mit Hilfe des Abbeschen Zeichenapparats auf Objekttischhöhe, bei einer Tubuslänge von 160 mm. Bei Fig. 1—14 und Fig. 18 und 19 wurde Zeiss Apochrom. Immers. 1,5 und Comp. Ocular 12 angewandt, bei Fig. 15, 16 und 17 Zeiss Obj. D und Comp. Ocular 6. Fig. 1—14 und Fig. 18, 19: Eisenhämatoxylin; Fig. 15—17: Hämalaun-Pikrokarmin.

Fig. 1. Jüngste Oocyten; das Gewirr der blassen Chromatinfäden ist nur zum Teil eingetragen.

Fig. 2. Stadium der dünnen Chromatinfäden.

Figg. 3—8. Stadium der dicken Chromatinfäden.

Figg. 4—7. Synapsis.

Fig. 3. Präsynaptisches Stadium.

Fig. 5. Sichtbarwerden der Längsspaltung.

Fig. 8. Postsynaptisches Stadium.

Figg. 9 u. 10. Eigentliche Wachstumsperiode.

Fig. 11. Kern einer gestreckten Eizelle, während der Ausbildung der Chromosomen der ersten Reifungsteilung.

Fig. 12. Eizelle mit »ausgetretenen« geformten Kernbestandteilen.

Fig. 13. Äquatorialplatte aus einer Furchungszelle.

Figg. 14a u. b. Zwei Schnitte durch eine Eizelle in der Prophase der zweiten Reifungsteilung; nur der eine Teil der Eizelle gezeichnet, in dem das Chromatin lag. 1. Rk. = erstes Richtungskörperchen.

Fig. 15. Schnitt durch eine ganze Ovarialscheibe.

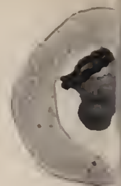
Figg. 16 u. 17. Schnitte durch degenerierende Ovarialscheiben.

Figg. 18 u. 19. Degenerierende Eizellen.


1


2

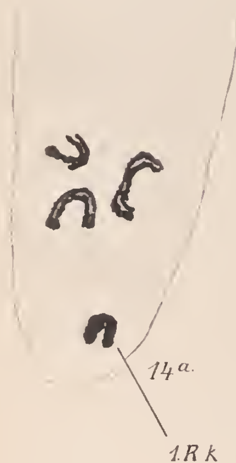

3.



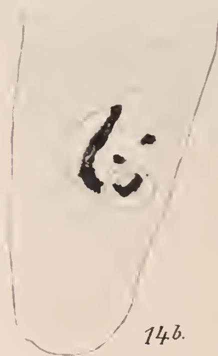

8

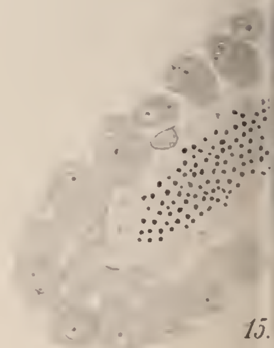

9.

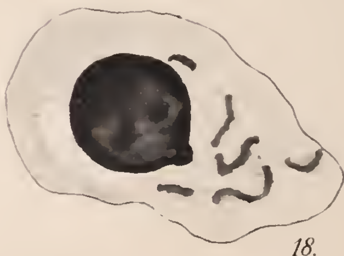




14a.

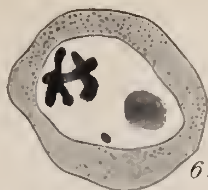

14b.


15.

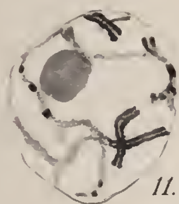

18.



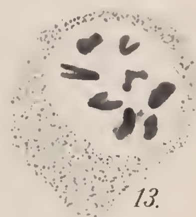

5


6.

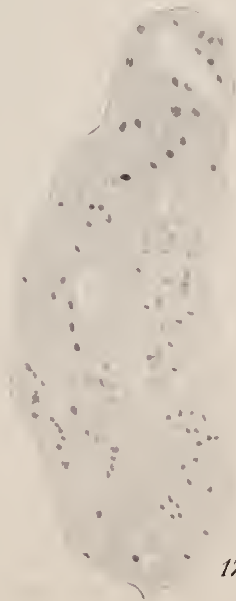

7.


11.


12.


13.


16.


17.

lmann Leipzig

Zur Bedeutung der Heterochromosomen.

(Mit einer Erwiderung an S. Gutherz.)

Von

Dr. Paul Buchner.

(Zoolog. Institut München.)

Mit Tafel XXIV.

Im vergangenen Jahre wurde von zwei Seiten die Entdeckung gemacht, daß nicht nur im Hoden, sondern auch im Ovar Heterochromosomen vorkommen können, das heißt, nicht nur aus rein zahlenmäßigen Gründen als Korrespondenten des oder der Heterochromosomen des Hodens anzusehende Gebilde, sondern solche, die durch morphologische und physiologische Besonderheiten sich unmittelbar von den Autosomen unterscheiden: Einmal geschah dies im Laufe der umfangreichen Untersuchungen, die Winiwarter und Saintmont über die organologische und cytologische Entwicklung des Katzenovars anstellten, also innerhalb einer Abteilung des Tierreichs, in der die Existenz von Heterochromosomen an sich schon etwas Überraschendes war[1]), das andere Mal wies ich selbst innerhalb der Gruppe, die neben den Hemipteren vor allem die Quelle unserer Kenntnis der Heterochromosomen bildet, ihr Vorhandensein im Ovar von *Gryllus campestris* nach.

Bei der Katze, aus derem Hoden wir bis jetzt nichts Analoges kennen, ist das Heterochromosom im Kernbläschen für gewöhnlich nicht zu sehen, bei der Kondensation der Chromosomen für die Mitose eilt es den übrigen jedoch bei weitem voraus und ist als regelrechtes längsgespaltenes Chromosom im Kern zu finden; in der Äquatorialplatte fällt es durch seine besondere Größe auf, durch den Spindelapparat wird es, wenn auch etwas

[1]) Mich. Guyer ist es nun auch geglückt, in der Samenbildung des Perlhuhns und des Haushuhns Heterochromosomen zu finden.

langsamer als die Autosomen, geteilt und verschwindet im Tochterkern wieder auf einige Zeit. In den Ovocytenkernen aber bleibt es stets kompakt, während des Bukettstadiums tritt ein Längsspalt in ihm auf. Das weitere Schicksal während des Eiwachstums haben uns die Verfasser leider noch nicht mitgeteilt. Die Chromosomeneigenschaften dieses Körpers und die Ähnlichkeiten in seinem Verhalten mit den accessorischen Chromosomen des Hodens gehen aus dieser Darstellung unzweifelhaft hervor.

Die zahlreichen Studien der letzten Jahre über diese Körper aber haben uns erkennen lassen, daß die Variationsbreite ihrer morphologischen Zustände eine überaus große ist. Durch eine vergleichende Betrachtung derselben wurde ich dazu geführt, alle diese Erscheinungen einzuordnen in eine Reihe, die von normalen Chromosomen zu immer weniger hoch organisierten chromatischen Gebilden führt, deren Funktion sich weit entfernt von der gewöhnlich mit dem Begriff des Chromosoms verknüpften und recht nahe kommt der, die wir Nucleolen und ähnlichen Strukturen zuschreiben. Die Eigenschaften des accessorischen Chromosoms im Ovar von *Gryllus* ließen dieses nahe an das Ende dieser Reihe setzen und eine gewisse Verwandtschaft mit den Substanzen des Dytiscus-Ringes konstatieren. Wir werden auf diese Eigenschaften noch ausführlicher zu sprechen kommen.

Die Annahme, daß die Substanzen des Heterochromosoms — zunächst im Ovar der Grylliden — und ebenso die des Dytiscus-Ringes einen Ersatz für die gewöhnlichen Einucleolen bilden, legte schon die Tatsache besonders nahe, daß die letzteren in beiden Fällen völlig fehlen. Für *Gryllus* diese Auffasung zu beweisen, ist das erste Ziel dieser Mitteilung. Der Weg hiezu kann natürlich nur der des Vergleichs sein. Wir werden die Identität der Vorgänge an den Chromosomen und im Plasma in den Ovocyten von *Gryllus* mit denen bei der Eientwicklung eines andern Orthopterons dartun, und dabei Nucleolen beschreiben, die sich stets an Stelle des Heterochromosoms finden. Dann wollen wir diskutieren, inwieweit die auf solche Weise befestigte Überzeugung von der Funktion des Heterochromosoms im Ovar übertragen werden darf auf die sich analog verhaltenden Chromosomen in der Spermatocyte, und wie sich hiezu die Hypothese von der geschlechtsbestimmenden Bedeutung derselben verhält. Da ferner — zu einer Zeit, als die folgenden Zeilen größtenteils niedergeschrieben waren — in diesen Tagen ein Vortrag von Gutherz in meine Hände kam, der meine Beobachtungen am *Gryllus*-Ovarium zum Gegenstand hatte, soweit sie sich auf das Heterochromosom beziehen, so sehe ich mich genötigt, an einigen Punkten, die er einer

scharfen Kritik unterzog, etwas vom Thema abzuschweifen, um die Schwäche seiner Einwände genügend darzutun.

Das Vergleichsmaterial bot eine *Troglophilus* spec. (*Stenopelmatidae* Brunner), die ich in einer neapolitanischen Wohnung im Januar zufällig fand. Die beiden Ovarien des einzigen mir vorliegenden Tieres waren mit Carnoyscher Flüssigkeit fixiert worden, die mir schon früher bei ähnlichen Objekten zufriedenstellende Dienste geleistet hatte, und mit Eisenhämatoxylin gefärbt. Die Ovarien standen auf einem ziemlich frühen Entwicklungszustand, so daß den Ovogonien und jungen Ovocyten für die Untersuchung ihrer einzelnen Phasen eine genügende Ausdehnung geblieben war. Der Bau des Organs, die Struktur des Endfadens, Follikelbildung und die zwiebelförmigen Umrisse entsprachen vollkommen den Verhältnissen bei *Gryllus*. In der Folge werde ich den Bildern aus dem *Troglophilus*-Ovar eine Reihe solcher von *Gryllus* gegenüberstellen, die meiner diesbezüglichen Untersuchung entnommen sind. Betreff der ausführlichen Darstellung der Vorgänge muß ich natürlich, um nicht allzuviel zu wiederholen, stets auf diese verweisen.

Die Ovogonienkerne von *Gryllus* enthalten neben den geringen chromatischen Substanzen, die auf die Chromosomen der letzten Teilung zurückzuführen sind, eine umfangreiche, meist vacuolisierte Masse der gleichen chemischen Beschaffenheit, die sich kappenförmig der Innenseite der Kernmembran anzulegen pflegt. Nicht selten zerfällt sie hiebei in zwei Teile (Fig. 5*g*). Beide Erscheinungsformen des Chromatins finden sich auch in den entsprechenden Zellen von *Troglophilus* (Fig. 1). Der Unterschied ist nur der, daß hier die kompaktere Chromatinsorte mehr im Centrum des Kernes liegt, keine Vacuolisation aufweist und dadurch einen mehr nucleolenartigen Charakter behält. Die Konturen sind jedoch auch nicht rund, sondern eckig, solange die Chromosomen aufgelöst sind, und das mit Chromatin bestäubte Lininwerk steht an diesen Ecken in unmittelbarem Zusammenhang mit dem Körper. Dies allein macht schon eine Substanzabgabe an die zu bildenden Chromosomen wahrscheinlich. Darin werden wir bestärkt, wenn wir weiterhin beobachten, daß die Konturen runde werden, wenn die Chromosomen gebildet sind, und daß deren Quantität in keinem Verhältnis steht zu dem Chromatin, das vorher außer dem Nucleolus im Kern war (Fig. 2, 3, 4). Das Chromosomenchromatin strömt an einigen Knotenpunkten zusammen, die anfangs nur geringen Anhäufungen (Fig. 3) wachsen bis zu einem Moment, in dem der Kern erfüllt ist von dichten, länglichen oder quadratischen Chromosomen. Ich stellte ihre Zahl nicht sicher fest, sie liegt wohl um 20. Der Nucleolus ist jetzt, wie auch häufig schon im

ruhenden Kern, in zwei Stücke zerfallen. Die entsprechenden Stadien bei *Gryllus* gleichen sich vollkommen (Fig. 6*g*). Auch hier werden die Konturen des chromatischen Körpers entsprechend der Chromosomenbildung rundlicher, und die Vacuolisation nimmt ab.

Leider kann ich über das Verhalten des bzw. der Nucleolen von *Troglophilus* bei der Mitose keine Angaben machen. Für *Gryllus* habe ich beschrieben, wie der Körper bei der Auflösung der Kernmembran erhalten bleibt und, wenigstens in den letzten Ovogonienteilungen, nur in eine — die Ovocyte liefernde Tochterzelle gelangt (siehe weiter unten). Wie bei *Gryllus*, sind auch bei *Troglophilus* die Mitosen recht selten und da mir nicht viel Vergleichsmaterial vorlag, kann ich nur sagen, daß die Chromosomen eine ebenso große Neigung zur Verklumpung besitzen wie bei *Gryllus* und daß ich eine Persistenz des Nucleolus bei der Mitose weder belegen noch mit aller Sicherheit verneinen kann. Fig. 7 gibt eine solche Mitose in der Anaphase wieder.

Junge Ovocytenstadien.

Jedenfalls finden wir die Nucleolen wieder, sobald der Tochterkern das Knäuelstadium erreicht hat, um die Vorgänge der Scheinreduktion und des Bukettstadiums durchzumachen. Auch bei *Gryllus* bleibt das Heterochromosom kompakt, während der ganze Kern mit zarten Fäden erfüllt ist, und scheint häufig Substanz an diese abzugeben (Fig. 8, 9*g*). Bilder, die für den gleichen Vorgang sprechen, bietet uns auch *Troglophilus.* Die Vorgänge der allmählichen polaren Orientierung sind so gleichförmig, daß es unmöglich wäre, nach ihnen allein die beiden Familien zu unterscheiden. Die Fäden sind noch sehr zart, an dem Ende, das nach dem plasmareichen Teil der Zelle schaut, sind sie recht oft angeschwollen (Fig. 11). Es ist dies der Moment, in dem das Plasma chromatisch wird. Wo die Fäden an der Kernmembran enden, tritt außen eine Wolke von chromatischen Körnern auf. Für *Gryllus* illustriert dies Fig. 10*g*, in den *Troglophilus*-Präparaten war die Differenzierung eine zu starke; nur eine dunklere plasmatische Haube deutet an, daß dieser Vorgang hier ebenso abläuft. Dieser Mißstand hat aber auch einen Vorteil im Gefolge und in dieser Hinsicht ergänzen die Befunde an der Heuschrecke die an *Gryllus.* Ich habe in einer Abhandlung über die Bedeutung des Centriols im Bukettstadium vor kurzem (1910) eine einheitliche Erklärung aller Faktoren dieses Zustandes — die Scheinreduktion ausgenommen — zu geben versucht, die darauf hinaus lief, daß das Bukettstadium bereits in die Phase der Teilungsvorbereitung zu rechnen

ist und sich deshalb das Centriol auch bereits in funktionellem Zustand befindet (Anziehung, Membranlösung usw.). Der tatsächliche Nachweis des Centralkörperchens an der die Schleifen orientierenden Stelle, gelegentliche Strahlungen desselben boten hiefür hauptsächliche Stützen. Bei *Gryllus* aber konnte ich kein solches finden, da es unter der Wolke von Chromidium verborgen lag. Die hochgradige Differenzierung meiner *Troglophilus*-Präparate ließ mich nun aber mit Sicherheit den gesuchten Körper inmitten der dunklen Plasmamenge auffinden. Es war dies nur mit sehr vorsichtiger Benutzung der Mikrometerschraube möglich, denn es handelt sich um ein Korn von äußerster Kleinheit. Die in Fig. 11, 15 wiedergegebenen sind, um sie deutlich zu machen, schon etwas zu plump ausgefallen. Völlig unmöglich aber war es, in den Zeichnungen die feine Orientierung des dichten Plasmas nach diesem Centriol wiederzugeben, die sich bei genauem Studium mit stets wechselnder Einstellung häufig ergab. Da im übrigen die Zelle bei *Gryllus* das gleiche Bild bietet, dürfen wir sicher sein, daß wir diese Beobachtungen auch auf jene übertragen können.

Auch jetzt scheint, bei beiden Tieren der Nucleolus, bzw. das Heterochromosom Beziehungen zu den zarten Chromatinfäden zu besitzen, die auf eine Substanzabgabe schließen lassen (Fig. 10*g*, 11). Diese hören auf, wenn die Schleifen wesentlich dicker werden und das leptotäne Stadium in das pachytäne übergeht. Der Längsspalt ist bei beiden Tieren nicht gerade deutlich zu sehn, bei *Troglophilus* noch viel weniger, als bei *Gryllus*. Die Anschauung, daß die Konjugation der Chromatinfäden nicht jetzt erst durch Längskonjugation herbeigeführt wird, sondern schon früher durch paarweise Vereinigung mit den Enden bewerkstelligt wurde, wird durch diese Tatsache nur bestätigt. Würden in diesem Stadium die Fäden sich parallel aneinanderlegen, so müßte — selbst wenn es zur völligen Verschmelzung käme, doch stets ein Moment zu beobachten sein, in dem die Schleifen deutlich doppelt sind. Die Auffassung, daß der Längsspalt des Buketts nur eine belanglose Teilungsvorbereitung ist, harmoniert auf das beste mit der wechselnden Deutlichkeit desselben. Gibt es doch Fälle, in denen während des Buketts der Längsspalt stets aufs klarste erscheint, solche, in denen er nur selten und dann meist auf späten Stadien sichtbar wird (*Gryllus*, und noch mehr *Troglophilus*), und endlich solche, in denen er trotz Zahlenreduktion sich überhaupt zu dieser Zeit noch nicht findet und erst unmittelbar vor der Reifeteilung sich bildet (*Sagitta*, Buchner 1910).

Nicht selten lassen sich dagegen quere, achromatische Lücken ungefähr in der Mitte der Fäden entdecken, die man als Chromosomengrenzen ansprechen darf (Fig. 17).

Bezüglich des Verhaltens der chromatischen Körper aber unterscheiden sich während des Bukettstadiums beide Tiere zum erstenmal prinzipiell (wenn wir von dem unsicheren Verhalten bei der Mitose absehen wollen). Bei *Gryllus* bekundet der Körper nun, daß wir ihn mit Recht bisher schon als Heterochromosom bezeichnet haben. Er nimmt Birnenform oder Sichelform an und schickt so einen dünnen Fortsatz nach der Stelle der Kernmembran, nach der auch die Chromosomen konvergieren (Fig. 12*g*). Inwieweit dies eine typische Heterochromosomeneigenschaft ist, davon wird unten die Rede sein.

Auf die Nucleolen von *Troglophilus* aber übt das Centriol keinerlei Einfluß. Sie liegen meist in der Zweizahl irgend wo im Kern und behalten stets runde Konturen. Nichts berechtigt uns also, in ihnen etwas andres zu sehen, als gewöhnliche Einucleolen, wie sie ja überaus oft schon in frühen Ovocytenkernen zu finden sind.

Das accessorische Chromosom von *Gryllus* wird während dieser Zeit vacuolisiert, d. h. es gibt reichlich Substanz ab an die extranucleäre Chromidialkappe und pflegt seine typische Lage und Form erst zu wechseln, wenn auch das übrige Bukett sich auflöst. Die Vorgänge dieser Auflösung spielen sich bei *Troglophilus* genau so ab, so daß wieder Stadien entstehen, die in beiden Tieren sich völlig gleichen. Denn auch bei *Gryllus* nimmt nun das Sonderchromosom wieder Nucleolenform an. Die Struktur allerdings weist auf die vorangegangenen Differenzen hin: bei *Gryllus* kommt in dieser oder jener Weise die achromatische Grundlage zum Vorschein (durch Vacuolisierung oder Granulabildung), bei dem Vergleichstier bleiben die Nucleolen kompakter (Fig. 14*g*, 15, 16*g*, 17). Meist liegen nun zwei, ja drei in einem Kern, Zerfallserscheinungen, die auch bei *Gryllus* zu beobachten waren. Weiterhin aber verhalten sich die Körper zum zweiten Male grundverschieden: der Körper im Gryllenovar erleidet Wandlungen, die, da sie nie an einem Nucleolus zu finden waren, deutlich bekunden, daß wir es mit keiner echten nucleolären Bildung zu tun haben; er zerfällt vielmehr auf hier nicht nochmals zu schildernde Weise in eine Unzahl feiner Granula, die den ganzen Kernraum endlich in gleicher Weise durchsetzen (Fig. 26*g*).

Das Wachstum der anfangs kompakten Derivate, das mit der Vergrößerung des Eikerns schritthält, macht auch der Nucleolus bei *Troglophilus* durch. Aber weiterhin verändert er sich nicht mehr, er bleibt als kompakte Kugel erhalten, bis der Eikern sich zur Reife auflöst. Er verhält sich nicht anders als alle andern Einucleolen dieses Typus (Fig. 19, 20, 21, 23, 25, 27).

Das Schicksal der Tetraden ist aber auch nicht das gleiche. Bei *Gryllus* konnte ich beschreiben, wie mit dem Wachsen des Eikerns auch die Chromosomen voluminöser werden, d. h. das Gefüge ihrer Granula lockerer wird, wie diese Auflösung fortschreitet zur Bildung chromatischer Wolken, die sich endlich gleichmäßig im Kern verteilen (Fig. 18*g*, 22*g*). Der Prozeß der Tetradenbildung wird also völlig rückgängig gemacht. Die Tetraden bei *Troglophilus* sind konservativer. Auch sie vergrößern sich, gehen reichliche Beziehungen zu dem Liningerüst ein, aber sie bewahren offenbar ihre Individualität. Auf Stadien, die bei *Gryllus* kaum noch Spuren davon zeigen, sind sie wohl erhalten und auch in den ältesten Eiern meiner Präparate sind sie noch zu finden Ihre Verteilung im Kerne ist allerdings eine recht gleichmäßige geworden, ein gelegentlicher Zerfall in einzelne Stücke erscheint dabei wohl wahrscheinlich; jedenfalls haben sie auch hier wieder tätigen Anteil an den Funktionen des dotterbereitenden Eies genommen.

Welche Schlüsse können wir aus diesem Vergleich ziehen? Der, auf den es mir augenblicklich am meisten ankommt, ist der, daß während der Stadien der Tetradenbildung und des Eiwachstums die Funktionen eines Nucleolus ersetzt werden können durch die eines Heterochromosoms, oder mit andern Worten, daß das Vorhandensein eines solchen während dieser Periode die Nucleolen überflüssig macht. Bevor wir dies aber etwas näher ausführen, müssen wir dem prinzipiellen Einwurf entgegentreten, daß der hier nochmals kurz beschriebene Körper im Gryllenovar überhaupt kein Heterochromosom ist. Denn das ist auch der Punkt, in dem GUTHERZ vor kurzem hauptsächlich meine Darstellung angegriffen hat.

Zunächst sei noch einmal daran erinnert, daß das Vorhandensein von Heterochromosomen in der Ovogenese bereits von WINIWARTER und SAINTMONT unzweideutig nachgewiesen wurde und zwar in einer über die Chromosomennatur keinen Augenblick in Zweifel lassender Weise. Der Einwand, es sei a priori unwahrscheinlich, daß solche Körper sich in der Ovogenese finden, fällt damit weg. GUTHERZ, der diesen Befund wenigstens aus dem Anhang meiner Arbeit kennen mußte, erwähnt ihn allerdings nicht. — Die vornehmsten Gründe für meine Klassifikation resultieren jedoch einmal aus der allgemein vergleichenden Betrachtung der Erscheinungsformen der Heterochromosomen und dann besonders aus der seiner Zustände während des Bukettstadiums. Die morphologischen Beobachtungen an den Heterochromosomen haben es unmöglich gemacht, eine für alle geltende Beschreibung zu geben. Es kommt ihnen vielmehr eine Variationsfähigkeit zu, die den normalen

Chromosomen völlig fehlt und deren Etappe sie von diesen entfernen. Ich verweise hier auf meine frühere Darstellung. Ist das Kompaktbleiben eines Körpers in Form eines Nucleolus von einer Mitose zur andern eine Chromosomeneigenschaft? oder die isolierte Lage im Plasma, wenn alle übrigen Autosomen einen gemeinsamen Kern gebildet haben, oder gar die Verteilung ohne Benutzung des Spindelapparats, wie sie z. B. Sinéty von dem enorm großen Heterochromosom von *Orphania* eindeutig beschrieben hat? Hat man je bei einem Chromosom beobachtet, daß es — wie ich annehme, bis dahin bivalent — sich teilt und das eine Teilprodukt bis auf einen Plastinnucleolus verschwindet (Wassilieff 1906, Buchner 1909)? Daß das den Chromosomen fremde Eigenschaften sind, hat man von Anfang an eingesehen, das belegen die Namen, die man den Körpern gegeben hat. Daneben aber tritt die Chromosomennatur mehr oder minder deutlich hervor. Ich schrieb daher 1909: »Meines Erachtens lassen sich die Dinge gar nicht anders darstellen als als Glieder einer Reihe, die von tatsächlicher genetischer Bedeutung sind. Diese Verhältnisse erschweren uns die Definition der betreffenden Gebilde. Der Begriff »Chromosom« ist hier so wenig ein exakt anwendbarer, wie in einer Pflanzenfamilie, die sich im Stadium fluktuierender Variation befindet, der Begriff »Art«. Ich habe es immer vermieden, den Körper im *Gryllus*-Ovar Chromosom zu nennen. Er steht zweifellos nicht mehr auf der Stufe eines so hoch organisierten Gebildes, wie er es selbst — der Abströmungsfortsatz ist der eindeutige Hinweis — einmal gewesen ist«. Nachdem man sich nun aber einmal daran gewöhnt hat, alle diese Variationen als Heterochromosomen zusammenzufassen, habe ich mich entschlossen, nicht zuletzt um neuen Termini zu entgehen, den Namen beizubehalten.

Daß aber das schon oft berührte Verhalten im Bukettstadium ein spezifisches Charakteristikum der Heterochromosomen ist, haben die Untersuchungen der letzten Jahre zur Gewißheit erhoben. Zuerst war es Wassilieff (1906), der bei *Blatta* die Bukettform des Sonderchromosoms beschrieben hatte. Ende 1908 konnte Davis in einer eingehenden Untersuchung an einer Reihe von Acridiern und Locustiden diese Angaben bestätigen, und weiterhin 1909 ich selbst in einer noch vielmehr ins einzelne gehenden Weise (für *Oedipoda*, *Decticus*, *Locusta*, *Acridium*, *Pezotettix*, *Psophus* und *Gryllus campestris*). Ich bin hiebei zu der Überzeugung gelangt, daß bei allen Orthopteren dieser Zustand des Heterochromosoms ein wichtiges Moment in der Entwicklung darstellt, eine Ansicht, in der mich auch entgegenlautende Untersuchungen nur fester bestärkten. Diesen ist gemeinsam ein vollkommenes Vernachlässigen

des Bukettstadiums und der Geschichte der Plastinnucleoli in der Spermatocyte. Nichtsdestoweniger und zum Teil trotz entgegenlautender Angaben im Text ist aus den beigegebenen Figuren stets zu entnehmen, daß erstens ein Bukettstadium besteht, und zweitens, daß das accessorische Chromosom die betreffende Stellung und Form bekommt. Dies gilt von der Untersuchung Gerards (1909) an *Stenobothrus biguttulus*, der Artoms (1909) an *Stauronotus maroccanus* und der Brunellis (1909) an *Gryllus desertus*. Eine Ausnahme macht Morse (1909), der mit seinen Angaben über *Periplaneta* bis zu einem gewissen Grad im Einklang mit Wassilieff, Davis usw. steht.

Zum Überfluß will ich noch einmal auseinandersetzen, inwiefern dieser Abströmungsfortsatz eine Erinnerung an Chromosomeneigenschaften darstellt. Das normale Chromosom lockert sich nach der letzten Vermehrungsteilung zu einem Faden auf, der durch die anziehenden Fähigkeiten des Centriols eine ganz bestimmte Orientierung bekommt, sich längsspaltet und erst später diese Stellung wieder aufgibt (Bukettstadium). Wir haben nun Heterochromosomen, die den größten Teil ihrer Substanz, zeitlich etwas nachschleppend, auflockern und — sich parallel den übrigen Chromosomen stellend — mit ihrem nicht kompakten Ende den allen Chromosomenenden gemeinsamen Punkt erreichen, solche, bei denen der Zerfall ein nur geringer ist und solche, die wie eine Keule, ohne ihr Gefüge zu unterbrechen, einen oft überaus fein auslaufenden Fortsatz genau nach diesem Punkt aussenden. Das sind Etappen des Schwindens von Chromosomeneigenschaften bei Gebilden, die jedermann als Heterochromosomen bezeichnet. Ja die Übereinstimmung kann selbst soweit gehen, daß der Fortsatz des Heterochromosoms sich längsspaltet! (Davis, Buchner.)

Was sagt nun Gutherz dazu, daß auch der *Gryllus*-Körper dieses Stadium durchmacht, das man nie wo anders beobachtete, es sei denn an Heterochromosomen? Er hat seine Nachprüfung nicht an der gleichen Species (*campestris*), sondern an *Gryllus domestica* gemacht und gibt als deren Resultat 7 »halbschematische« Abbildungen. Hierbei fand er wohl auch in den Ovogonienkernen, die vor der Mitose stehen, einen platten, vacuolisierten Körper, von dem ein oder mehrere Stücke abbröckeln können, konnte bestätigen, daß dieser sich in der Mitose erhält und daß er auch während des Bukettstadiums sich findet. Die während des Wachstums sich abspielenden Vorgänge wurden nicht verfolgt, sie scheinen jedoch — schreibt Gutherz — manches Gemeinsame mit den von mir geschilderten zu haben. Im Bukettstadium aber findet er das von mir beschriebene und in Fig. 116, 120, 121, 122, 124, 128, 129,

einwandfrei dargestellte Verhalten nicht wieder. Selbst wenn bei *Gryllus domestica* der Zustand fehlen sollte, was ich bei der Identität der übrigen Stadien bezweifle, kann das auf meine Beobachtungen bei einer andern Species keinen Einfluß haben (bei *Gryllotalpa* z. B. sind die Verhältnisse ganz andere!) und ich verstehe GUTHERZ nicht recht, wie er sich der Kritik dieser Chromosomeneigenschaft, um die sich fast alles dreht, so leicht dadurch entziehen kann, daß er feststellt, daß er sie bei einer andern Form nicht findet. Denn eine Verwechslung mit etwa anklebenden Chromosomenschleifen, wie es DUESBERG einmal gemeint hat, ist bei meinen Bildern ausgeschlossen. Natürlich geht aus der Lage im Kern hervor, daß sich Schnitte finden müssen, auf denen der Fortsatz nicht getroffen ist und der Körper zusammenhangslos fern von den Autosomen liegt; solche Bilder oder Stadien, in denen die Substanzabgabe bereits erschöpft war, mögen auch die Fig. 7 bei GUTHERZ, die einzige, die er meinen Angaben gegenüberstellt, veranlaßt haben.

Wenn ich schon sagte, daß GUTHERZ mit mir bezüglich der Erhaltung des fraglichen Körpers bei der Mitose übereinstimmt, so gehen doch die Einzelheiten weit auseinander. Seine Fig. 2 entspricht der Metaphase meiner Figur 107. Der bei mir recht scharf und chromosomenartig konturierte und kompakte Körper ist bei ihm nur etwas lockerer gefügt. Wenn er aber meint, Figur 3 gebe den Querschnitt dieses Körpers, so bin ich überzeugt, daß er sich hierin täuscht. In den Granulawolken, die in verschiedener Zahl und Ausdehnung die Äquatorialplatte umziehen, sind die Mitochondrien abgebildet, von denen meine Teilungsfiguren 107, 110, 113 zeigen, daß sie in ebensolcher Weise neben dem fraglichen Körper in Gruppen das Spindelplasma umgeben. Die Derivate dieser Mitochondrien sind es sicher auch, die in der Telophase zu jenen Einlagerungen in die verbindenden Fasern werden, Vorgänge, mit denen uns GIGLIO-TOS und GÉRARD neuerdings unabhängig voneinander in übereinstimmender Weise bekannt machten[1]). Mit dem besonderen Körper aber können sie nichts zu tun haben, da auch sie, ebenso wie im vorangehenden Zustand gleichzeitig mit diesem sich in der Zelle finden (meine Fig. 107).

Wenn also GUTHERZ meint, daß auf diese Weise der Körper auf beide Zellen verteilt wird, kann ich in keiner Weise beistimmen. Vielmehr habe ich 1909 beschrieben, daß der Körper ungeteilt in nur eine

[1]) Ich halte also die Annahme, daß es sich um Abfallsstoffe der sich teilenden Chromosomen handelt, nicht mehr in dem Maße aufrecht, glaube aber, daß solche sich am Aufbau mit beteiligen.

Tochterzelle gelangt und dies durch Bilder illustriert, die denselben unmittelbar neben einer Tochterplatte oder über nur einem sich rekonstruierenden Tochterkern zeigten. Nie war auch in späten Telophasen eine Andeutung an eine Teilung oder völlige Auflösung zu sehen. Nach dem GIARDINAschen Vorgange wäre dies nichts allzu Überraschendes und die Annahme, daß nur die Zellen mit dem Körper Eizellen bleiben, wurde dadurch nahegelegt, daß nie eine auch noch so junge Ovocyte ohne denselben getroffen wurde, oder eine Andeutung, daß derselbe sich irgendwie neu bilde. Als Derivate der andern Zellen blieben nur die häufig beobachteten degenerierenden Zellen, die von dem Ei gefressen werden. Ich bin mir wohl bewußt, daß der Mangel einer Reihe von diesen degenerierenden Zellen zu einer Zelle ohne das Heterochromosom, die noch den Zusammenhang mit einer solchen mit demselben aufweist, eine Lücke meiner Untersuchung bildet; aber ich sehe keinen andern Ausweg. Mit entwicklungsgeschichtlichen Beobachtungen muß diese Anschauung keineswegs kollidieren, denn es ist nicht nachgewiesen, daß alle die indifferenten Zellen zwischen den Ovocyten mit den Follikelzellen gleichen Ursprungs sind. Doch hat die Entscheidung dieser Frage nichts zu tun mit der nach der Chromosomennatur und eine völlig einwandfreie Darstellung ist eine Sache weiterer Untersuchung.

Da GUTHERZ die Deutung als Heterochromosom nicht annimmt, bliebe nur die als Nucleolus. Er sieht aber selbst ein, daß der Körper sich mit diesem Begriff nicht deckt, sein Verhalten zur Mitose und im wachsenden Ei stehen — abgesehen von dem zum Bukettstadium — im Wege. So muß GUTHERZ zu dem nicht gerade befriedigenden Ergebnisse kommen: »das Studium der *Gryllus*-Oogenese vermittelt uns die Kenntnis eines Körpers, den wir nicht ohne weiteres in eine der uns geläufigen Kategorien von Zellbestandteilen einzuordnen vermögen«.

Dieser Exkurs hat uns etwas vom Thema entfernt, er sollte die Basis unserer weiteren Betrachtung, die Chromosomenverwandtschaft des *Gryllus*-Körpers, an der Hand des GUTHERZschen Einwurfs, festigen. Wenn wir zum Schluß noch daran denken, daß bei *Gryllus* selbst im Hoden das unzweifelhafte Heterochromosom während des Bukettstadiums die gleiche Erscheinung beobachten läßt, wie gleichzeitig der fragliche Körper im Ovar (BRUNELLI 1909, Fig. 16!), und uns erinnern, daß diese nur an Heterochromosomen, hier aber sehr häufig, konstatiert wurde, so glauben wir dies in überzeugender Weise getan zu haben. —

Der Vergleich der Ovogenese beider Tiere hat uns gelehrt, daß die ganze Bildung der Tetraden völlig gleich verläuft, daß alle Bewegungs-

vorgänge im Kern, die Kondensation des Chromatins, die Ausbildung eines Fadenknäuels, eines Buketts mit leptotänen und pachytänen Fäden, dessen Auflösung so ähnlich sind, daß sich die Illustrationen für beide Tiere vertauschen ließen, wenn nicht im einen Falle ein gelähmtes Chromosom, im andern ein Nucleolus vorhanden wäre. Ja auch eine Reihe von Zuständen dieser beiden Bildungen waren naturgemäß die gleichen. Die Gegenüberstellung muß die Überzeugung aufdrängen, daß die eine Bildung die andere funktionell vertritt. Daß auch sonst eine solche Vertretung von Einucleolen durch andere Substanzen vorkommen kann, lehren *Dytiscus* und *Sagitta.* Auch in diesen beiden fehlen Einucleolen und existiert eine spezifische nur der Keimbahn angehörige Substanz (Giardina 1901, Buchner 1910), über deren trophischen Charakter wir nicht im Zeifel sein können. Diese Ansicht über das Heterochromosom im Ovar dürfen wir aber auch ruhig auf die entsprechenden Perioden des Heterochromosoms im Hoden übertragen, in denen das morphologische Bild der Geschlechtszelle das gleiche ist.

Daß diese Auffassung von der trophischen Natur der Heterochromosomen, die schon Goldschmidt 1904 kurz ausgesprochen, durch eine Reihe weiterer morphologischer Momente gestützt wird, habe ich schon früher dargelegt; Kompaktbleiben durch ganze Zellgenerationen, Selbständigkeit gegenüber dem übrigen Kernchromatin, die sich sogar in einer unabhängigen Kernbildung offenbaren kann, völlige funktionelle Degeneration bis zu einem Plastinnucleolus sind solche. Alle diese Gründe aber haben sich, ebenso wie die neuen hier vorgebrachten, einzig auf die allerletzte Periode in der Geschichte der Geschlechtszellen bezogen, in Erscheinungen im Laufe der Keimbahn konnten sie keine Stütze finden, einmal weil man damals und heute nichts davon weiß, und dann weil die wenigen Angaben, aus denen wir auf frühe Spermatogonien schließen können, dafür sprechen, daß das Heterochromosom in seinem Verhalten, je weiter wir zurückgehen, desto mehr sich den Autosomen nähert.

Ich selbst und die übrigen Untersucher auf diesem Felde haben auf eine reinliche Trennung dieser beiden Perioden der Tätigkeit der Heterochromosomen vielleicht zu wenig geachtet. Mit Sicherheit können meine Schlüsse über die trophische Bedeutung des Heterochromosoms nur für diese zweite Periode gelten. Die Forscher aber, die zu der Anschauung gekommen sind, daß in der Tatsache des Vorhandenseins oder Fehlens der Heterochromosomen in einem Organismus ein geschlechtsbestimmender Faktor liegt, verlegen die Bedeutung, d. h. die rätselhafte Funktion desselben in die erste, cytologisch unbekannte Periode. Sind wir von der trophischen Funktion in der zweiten Periode überzeugt —

und ich glaube, dem wird man sich auf die Dauer kaum entziehen können — so erhebt sich die neue Fragestellung: können beide Funktionen in den beiden Entwicklungsetappen nacheinander in Kraft treten? und was dürfen wir aus dem Verhalten in der zweiten Periode auf das Wie der Funktion in der ersten schließen?

Wenn neuerdings unter den Anhängern der Geschlechtsbestimmungshypothese die Auffassung einer Wirksamkeit rein durch das Plus und Minus der Masse die herrschende geworden ist (Boveri 1909), so muß man demgegenüber aus den physiologischen Besonderheiten der Heterochromosomen in der zweiten Periode auch auf eine solche in der ersten schließen; und ferner muß es völlig unverständlich bleiben, daß es Fälle gibt, bei denen die Größenunterschiede der »männlichen und weiblichen« Chromosomen so geringe sind, daß sie mit den stärksten Vergrößerungen gerade zu sehen sind. Wilson selbst nimmt an, daß der Größenunterschied der Diplosomenpaare ein allmählich entstandener ist, der im extremen Fall bis zum Schwund eines Komponenten geführt hat. Der Ausgangspunkt waren also gleiche Spermien, die trotz ihrer gleichen Heterochromosomen zu zwei Geschlechtern führten. Solche Betrachtungen überzeugen, daß von einer geschlechtsbestimmenden Wirkung nicht die Rede sein kann; daß die ungleiche Verteilung der Heterochromosomen und die zwei Spermiensorten mit der geschlechtlichen Differenzierung aber überhaupt nichts zu tun hat, ist damit keineswegs gesagt. Daß beide Dinge irgendwie zusammenhängen, kann natürlich, besonders nach den neuen Untersuchungen an Aphiden und Phylloxera nicht mehr bestritten werden. Den die Differenzierung verschuldenden Faktor brauchen sie deshalb noch lange nicht darstellen, sie können ebensogut die Folge der geschlechtlichen Trennung sein, das heißt, irgend einer in dieser begründeten, in beiden Fällen verschiedenen Funktion vorstehen. Kommt doch selbst Morgan am Schlusse seiner bedeutsamen Untersuchung zu dem Resultat: »The accessory may follow sex or be associated with other differences that determine sex rather than be its sole cause«.

Wenn wir auf diesem Standpunkt stehen, brauchen wir uns aber nicht mehr um die rätselhafte erste Funktionsperiode des Heterochromosoms zu kümmern. Dann legen es die Beobachtungen, die eine Steigerung, ja sogar erst ein Erwachen der spezifischen Heterochromosomeneigenschaften in den letzten Spermatogonien und Spermatocyten konstatierten, nahe, diese funktionellen Differenzen erst in diese letzten zu verlegen. Welcher Art sie sind, wissen wir heute nicht. Da uns die Anwendung des Experiments versagt ist, bleibt uns als Forschungsmethode nur die

vergleichende: durch ein eingehendes Studium vieler Formen die Variationsbreiten aufzudecken und aus ihnen das Prinzipielle und die mögliche Entstehungsweise der Zustände zu erschließen[1]).

Ähnliches gilt ja für die weitere Forschung auf ovogenetischem und spermatogenetischem Gebiete überhaupt. Da ich der festen Überzeugung bin, daß die Spermatogenese der Orthopteren widersprechenden Resultaten zum Trotz einen einheitlichen Typus darstellt, von dem sich noch nicht sagen läßt, ob und in wieweit er entsprechend den systematischen Unterabteilungen auch unterscheidende Charaktere zweiten Grades aufweist, war es mir interessant, zu konstatieren, daß auch die junge Ovocytenperiode in bezug auf den ganzen Habitus und das Schicksal der Autosomen bei Grylliden und Stenopelmatiden sich so sehr gleichen. Denn bisher fehlte eine einigermaßen eingehende Darstellung der Ovogenese eines Orthopterons — *Gryllus* ausgenommen — völlig. Meines Wissens hat nur Giardina (1902) eine Anzahl Bilder aus dem Ovar von *Mantis religiosa* mitgeteilt, aus denen ein leptotänes und pachytänes Bukettstadium, polarer Chromidienaustritt und das Vorhandensein eines kleinen Nucleolus hervorgeht. Die Stadien gleichen denen von *Gryllus* und *Troglophilus* sehr. — Das allmähliche Herausarbeiten von Typen in Spermato- und Ovogenese, die sich, wie bereits jetzt an so vielen Punkten zu sehen ist, mit systematischen Abteilungen decken, prägnante Definitionen des Habitus der Zellzustände in diesen würden unsrer Kenntnis der Reifung förderlicher sein als der ewige Streit um das Wie der Reduktion, der gegenwärtig auf einem toten Punkt angelangt ist. Die Ordnung der Variationen in Reihen, eine vorsichtige Kritik ihres Wertes für eine teilweise historische Betrachtung der Phänomene werden dann vielleicht neue Wege weisen, zum mindesten aber Ordnung in eine Menge heute völlig zusammenhanglosen Beobachtungsmaterials bringen.

Was die späteren Ovocytenstadien betrifft, so sind die Vorgänge an den Chromosomen hier weniger konservativ als in der vorangehenden Periode. Schon die nahe verwandten Tiere, die wir verglichen haben, zeigten Differenzen, die vielen Forschern so prinzipiell erscheinen, daß sie um ein aut-aut streiten; ich meine das Erhaltenbleiben der Chromosomen als Tetraden im wachsenden Ei. Die Faktoren, die hier wirksam sind, sind die Dauer der Wachstumsperiode, das Vorhandensein und die

---

[1]) Eine Vereinigung der Geschlechtsbestimmungshypothese und der von der trophischen Natur der Heterochromosomen hat inzwischen R. Goldschmidt in einem Vortrag in der Senkenbergischen Gesellschaft versucht (vergl. mein Referat hierüber in diesem Archiv).

Form des Nucleolarapparats, der Grad der Dotterbildung und ähnliches. Die großen Schwankungen, denen diese die Funktionen der Chromosomen bedingenden Umstände unterliegen können, erklären die verschiedenen Chromosomenzustände zu dieser Zeit, und eine literarische Behandlung der hierfür bis jetzt unübersichtlichen Angaben würde wohl zur Feststellung solcher gesetzmäßiger Parallelen gelangen können.

Neapel, im Februar 1910.

Literatur.

ARTOM, CES. Cromosomi et Heterocromosoma nelle cinesi spermatogenetiche di »Stauronotus maccroanus« Thunb. Biologica, vol. II, no. 16. 1909.

BOVERI, TH. Über Beziehungen des Chromatins zur Geschlechtsbestimmung. Sitzb. Phys. med. Ges. Würzburg. 1909.

BRUNELLI, GUST. La spermatogenesi del »Gryllus desertus« Pall. (Divisioni spermatogoniali e maturative). Reale Accad. dei Lincei. Roma. Serie 5a, vol. VII. 1909.

BUCHNER, PAUL. Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Reduktion. Arch. f. Zellforschung, Bd. III. 1909.

—— Keimbahn und Ovogenese von Sagitta. Anat. Anzeig., Bd. XXXV. 1910.

—— Von den Beziehungen zwischen Centriol und Bukettstadium. Arch. f. Zellforschung, Bd. V. 1910.

DAVIS, H. S. Spermatogenesis in Acrididae and Locustidae. Bull. Mus. Comp. Zool. Harvard Coll., vol. LIII. 1908.

DUESBERG, J. Der Mitochondrialapparat in den Zellen der Wirbeltiere und Wirbellosen I. Arch. mikr. Anat., Bd. LXXI. 1907.

GERARD, POL. Recherches sur la Spermatogénèse chez Stenobothrus biguttulus (Lim.). Arch. Biolog., tom. XXIV. 1909.

GIARDINA, A. Origine dell' oocite e delle cellule nutrice nel Dytiscus. Internat. Monatsschrift f. Phys., Bd. XVIII. 1901.

—— Sui primi stadii dell' ovogenesi e principalmente sulle fasi di sinapsi. Anat. Anz., Bd. XXI. 1902.

GIGLIO-TOS. I mitocondri nelle cellule seminali di Pamphagus marmoratus. Biologica, vol. II. 1908.

GUTHERZ, S. Wird die Annahme einer Beziehung zwischen Heterochromosomen und Geschlechtsbestimmung durch das Studium der Gryllus-Oogenese widerlegt? Sitzber. Ges. Naturforsch. Freunde, Nr. 9. 1909.

GUYER, MICH. F. The Spermatogenesis of the domestic Guinea (Numida meleagris dom.). Anat. Anz., Bd. XXXIV. 1909.

—— The Spermatogenesis of the Domestic Chicken (Gallus gallus dom.). Anat. Anz., Bd. XCIV. 1909.

MORGAN, T. M. A biological and cytological study of Sex Determination in Phylloxerans and Aphids. Journ. exper. Zool., vol. VII. 1909.

Morse, Max. The nuclear components of the sex cells of four species of cockroaches. Arch. f. Zellforschung, Bd. III. 1909.

Wassilieff, A. Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. mikr. Anat., Bd. LXX. 1907.

Winiwarter, H. von und Saintmont, G. Nouvelles recherches sur l'ovogénèse et l'organogénèse de l'ovaire des mammifères (chat). Chap. IV. Ovogénèse de la zone corticale primitive. Arch. Biol., tom. XXIV. 1909.

Erklärung der Abbildungen auf Tafel XXIV.

Die Figuren gehören teils der Ovogenese einer *Troglophilus*-Species, teils der von *Gryllus campestris* an; letztere sind mit *g* gekennzeichnet. Entworfen wurden sie durchweg auf der Höhe des Arbeitstisches mit dem Abbeschen Zeichenapparat, die von *Gryllus* mit Leitz Ölimm. $^1/_{12}$, Ocul. 4, die von *Troglophilus* mit homog. Immersion 2 mm Zeiss und Compens. Ocular 8 Zeiss.

Fig. 1. Ruhende Ovogonienkerne, in einem bereits Prochromosomen.

Fig. 2, 3, 4. Ausbildung der Chromosomen für die Ovogonienmitose.

Fig. 5*g*. Ovogonie mit Heterochromosom.

Fig. 6*g*. Ovogonie mit Heterochromosom vor der Teilung.

Fig. 7. Ovogonienmitose.

Fig. 8. Junge Ovocyte. Knäuelstadium.

Fig. 9*g*. Ähnliches Stadium von *Gryllus*.

Fig. 10*g*. Bildung des Buketts.

Fig. 11. Bildung des Buketts.

Fig. 12*g*. Bukettstadium. Das Heterochromosom mit Abströmungsfortsatz.

Fig. 13. Bukettstadium; Nucleolus.

Fig. 14*g*, 15. Bukettstadien.

Fig. 16*g*, 17. Bukettstadium in Auflösung.

Fig. 18*g*, 19, 20. Bukettstadium aufgelöst, Nucleolen, bzw. Heterochromosom.

Fig. 21. Wachsende Ovocyte mit Nucleolus; Chromosomen erhalten.

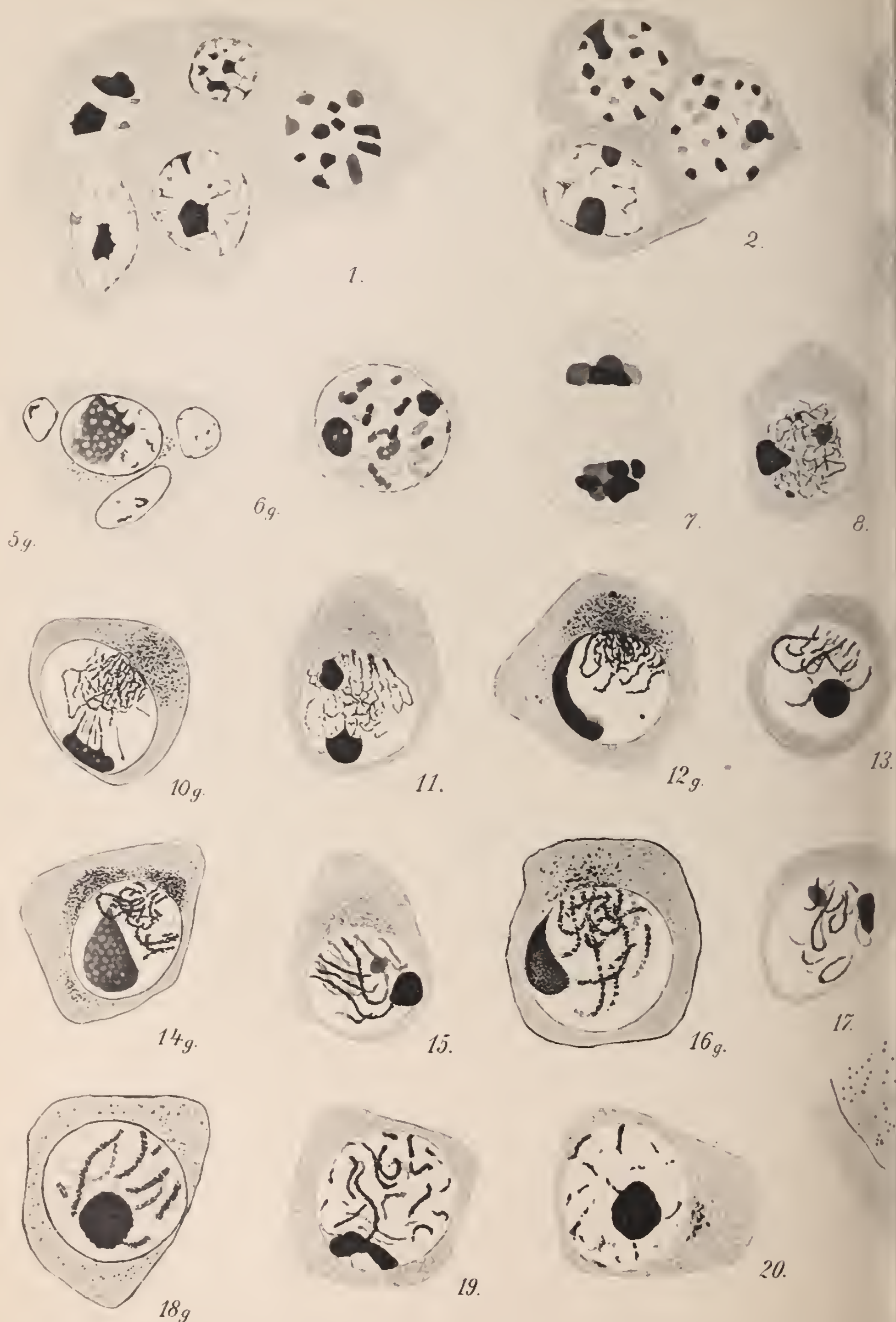
Fig. 22*g*. Wachsende Ovocyte mit Heterochromosom; Chromosomen zerfallen.

Fig. 23. Ovocyte mit Chromosomen.

Fig. 24*g*. Ovocyte mit fast völlig verschwundenen Chromosomen.

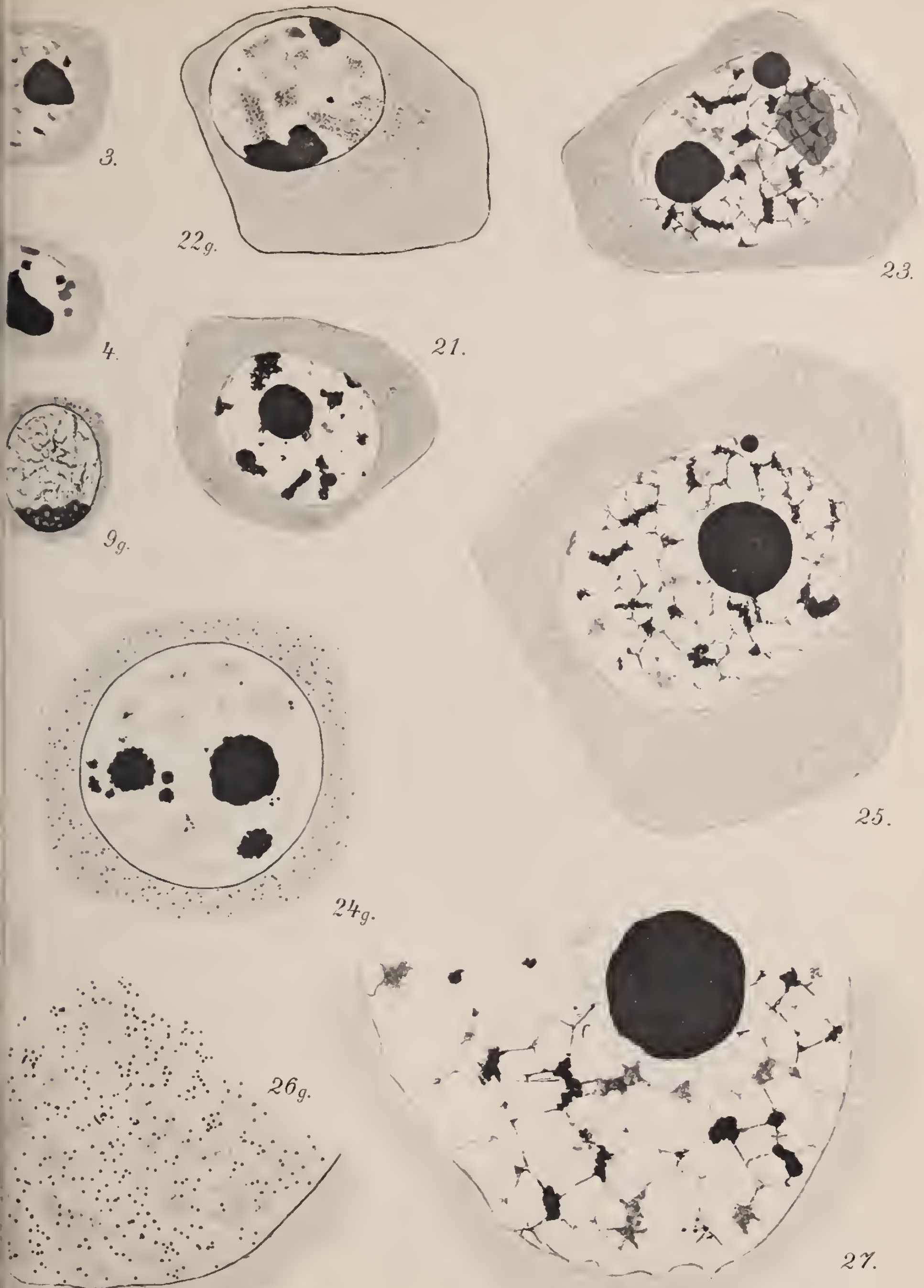
Fig. 25. 27. Ältere Ovocyten; Chromosomen und Nucleolus erhalten.

Fig. 26*g*. Ältere Ovocyte; Chromosomen aufgelöst, Heterochromosom in Form von Granula im ganzen Kern verteilt.



P. Buchner gez.

Verlag v. Wilhelm



…nann, Leipzig.

Lichtdruck v. C. G. Röder, G. m. b. H., Leipzig.

Referate.

Collin, B., La conjugaison d'*Anoplophrya branchiarum* (Stein). (*A. circulans* Balbiani). in: Archives de Zoologie expérimentale et générale. 5me série, T. 1. p. 345—388, Planch. 7 et 8. 1909.

Das in der Blutflüssigkeit von *Gammarus* und *Asellus* schmarotzende Infusor zeigt bei der Konjugation sehr interessante Erscheinungen, besonders den schon von A. Schneider 1885 beschriebenen Austausch von Großkernhälften. Das Verhalten der Micronuclei bei der Konjugation entspricht im allgemeinen dem bei andern Ciliaten beobachteten. Der im Ruhezustand gleichmäßig färbbare Kleinkern bläht sich vor der ersten Reifeteilung auf und zeigt ein Liningerüst, während das Chromatin sich in einer unregelmäßig sternförmigen Masse an einem Pol ansammelt. Hierauf wird der Kern birnförmig; am stumpfen Pol liegt die Chromatinansammlung, von deren Centrum nunmehr sechs Stränge ausgehen, die den späteren Chromosomen entsprechen. Von Pol zu Pol ziehen gleichfalls sechs Spindelfasern. Dieses Stadium wird mit einer Synapsis homologisiert. Hierauf bildet sich eine Kernspindel mit sechs Spindelfasern aus, an die sich das Chromatin in 6 chromosomenartigen Streifen anlagert (Äquatorialplatte). Diese »Chromosome« teilen sich quer, die Hälften der gesamten Chromatinmasse lagern sich als konische Zäpfchen an den beiden Polen der Spindel ab, verbunden durch einen die Spindel durchziehenden siderophilen Faden, und schnüren sich schließlich als Tochterkerne von dem degenerierenden Rest der Spindel ab, um in ein Ruhestadium überzugehen. Bei der zweiten Reifeteilung bilden sich 6 deutliche Chromosome aus, von denen je 3 an jeden Pol wandern. (Reduktion; primärer Typus. Goldschmidt *Zoogonus mirus* 1905.) Auch hier werden die Pole der Spindel als Tochterkerne abgeschnürt und treten in ein Ruhestadium ein; der Rest degeneriert.

Einer dieser vier Kerne teilt sich aufs neue in die beiden Vorkerne (stationärer und Wanderkern); die drei andern degenerieren. Die spindelförmigen Geschlechtskerne sind stets so angeordnet, daß in jedem Konjuganten die Achsen der beiden Spindeln aufeinander senkrecht stehen. Es scheint, daß die stationären Kerne mit ihrer Längsachse parallel, die Wanderkerne senkrecht zur Trennungslinie der beiden Individuen stehen. Auf die Befruchtung folgen zwei Mitosen der Syncarien, die wieder die Normalzahl (6) der Chromosome deutlich erkennen lassen. Von den so gebildeten 4 Micronuclei bildet einer den neuen Großkern, einer den definitiven Kleinkern, zwei degenerieren. Während dieser Konjugationsvorgänge spielen sich die auffallenden Erscheinungen am Großkern ab. Der ursprünglich etwa kugelige Großkern streckt sich in jedem Konjuganten in die Länge; ein Ende erreicht die Scheidewand zwischen beiden Tieren, durchbohrt sie, und schließlich streckt der bandförmig gewordene Großkern jedes Individuums sich durch beide Konjuganten; vor der Trennung reißen sie in der Mitte durch, so daß jeder Exkonjugant je zwei Großkernhälften verschiedener Provenienz enthält,

die aber während der Rekonstruktion des neuen Kernapparats degenerieren, ohne sich vereinigt zu haben.

Nach der Beschreibung dieser normalen Vorgänge erwähnt Verf. noch einige Anomalien, wie überzählige Mitosen der Vorkerne oder der Syncarien, oder auffallende Verschiedenheiten im Tempo der Teilungen bei den verschiedenen Micronuclei derselben Provenienz. Auffallend ist hierbei eine stets zu konstatierende Symmetrie, d. h. das gleichmäßige Auftreten dieser Anomalien in beiden Konjuganten. Verf. erklärt sich dies aus der Durchmischung des Plasmas beider Individuen, durch die in beiden die gleichen, den Ablauf der Teilungsvorgänge bestimmenden Bedingungen eintreten.

Im allgemeinen Teil bespricht Verf. zunächst die Bedingungen, unter denen die Konjugation eintritt. Schwach (erst kurz) infizierte Wirte beherbergen große, stark infizierte Kruster kleine Individuen. Nur die kleinen Individuen sind konjugationsfähig. Es scheint also auch hier der Eintritt der geschlechtlichen Funktion eine Folge ungünstiger äußerer Bedingungen; die Teilungen, die die kleinen konjugationsfähigen Individuen hervorbringen, sind als Hungerteilungen zu betrachten.

Die Konjuganten eines Paares erweisen sich bei Messungen stets gleich groß — im Gegensatz zu den von Enriques (1908) bei *Chilodon* festgestellten Erscheinungen (Hemisexe).

Den Austausch von Macronucleushälften sucht Verf. mechanisch aus den Veränderungen von Spannung und Druck im Plasma der Konjuganten zu erklären, mit Ausschaltung einer Hypothese, die auf Reminiszenzen an Konjugationserscheinungen bei den Ahnenformen der jetzigen Ciliaten hinweist.

E. Neresheimer (Wien).

Moroff, Th. und G. Stiasny, Über Bau und Entwicklung von *Acanthometron pellucidum* J. M. in: Arch. f. Protistenk. Bd. 16. 1909. S. 209—236. Taf. 13 u. 14. 54 Textfig.

Im Gegensatz zu der bisherigen Auffassung ist der Organismus von *Acanthometron* kein einzelliges Tier, sondern eine Kolonie von zahlreichen Individuen, eingeschlossen in gemeinsamer extrakapsulärer Sarkode. Die Centralkapsel enthält eine Anzahl von Schizonten. Die »gelben Zellen«, bisher nach Analogie der bei andern Radiolarien tatsächlich vorliegenden Verhältnisse, als symbiotische Algen gedeutet, sind in Wirklichkeit die vegetativen Kerne, »Macronuclei«, der Schizonten. In der Entwicklung der Schizonten unterscheiden die Verff. zwei Reihen, die nach dem Vorhandensein großer oder kleiner Macronuclei bestimmt werden.

Junge, einkernige Individuen kamen nicht zur Beobachtung. Das Plasma der Centralkapsel besteht schon bei den jüngsten untersuchten Exemplaren aus einer Anzahl von rundlichen Zellen, die als Merozoiten bezeichnet werden. Sie enthalten zunächst einen kleinen kompakten nucleolusartigen Kern. Aus ihm tritt beim Wachstum der Merozoiten (in der Reihe mit kleinen Kernen) Chromatin aus und bildet einen Kern, der den ursprünglichen als Nucleolus enthält. Das ursprünglich fein verteilte Chromatin des Kerns sammelt sich dann in Form von Plättchen an der Peripherie des Kerns an. Am lebenden Objekt zeigt dieser Macronucleus eine grünlich-gelbe Färbung (daher »gelbe Zelle«). Allmählich füllt der Macronucleus fast den ganzen Merozoiten aus. Der in ihm liegende »Nucleolus« stellt den generativen Kern, den »Micronucleus«, dar. Gegen Ende des Wachstums des Merozoiten beginnt er sich durch fortgesetzte direkte Teilung zu vermehren; die (bis 30) Micronuclei rücken an die Peripherie der Großkerns, der nun

degeneriert und sich auflöst. Der erwachsene Schizont besteht also aus einer Plasmakugel, an deren Peripherie die Micronuclei verteilt sind. Um jeden Kern isoliert sich eine Plasmapartie als neugebildeter Schizont; in der Mitte bleibt ein plasmatischer Restkörper; diese Vermehrung wiederholt sich öfters, so daß schließlich die ganze Centralkapsel von solchen Individuen gefüllt wird, worauf alle Restkörper und Merozoiten zu einer einheitlichen Masse von gleichmäßiger vakuolärer Struktur verschmelzen. Hierauf lösen sich die Micronuclei in einzelne Chromatinkörner auf, aus denen sich größere Kerne bilden; diese können sich »auf eine Art mitotischer Teilung« vermehren oder sie zerfallen »durch eine Zerdehnung« in 4—6 Tochterkerne, die definitiven Schwärmerkerne. Bei diesen Vermehrungsvorgängen treten verschiedene Kernbilder mit chromosomenähnlichen Gebilden auf.

Die Merozoiten der zweiten Reihe enthalten anfangs einen großen Kern, der eine große Menge dicht zusammengehäufter Chromatinkörnchen enthält; ein Micronucleus scheint zu fehlen. Der Kern, der den Merozoiten fast ganz ausfüllt, wächst mit diesem auf die doppelte Größe heran, worauf er sich amitotisch teilt. Einer der Tochterkerne erfährt eine Auflockerung und wird größer, wobei er dieselbe plättchenförmige Anordnung des Chromatins gewinnt wie die Macronuclei der ersten Reihe. Der zweite wird zum Micronucleus. »Der Hauptunterschied besteht darin, daß sich der Micronucleus außerhalb des Macronucleus befindet«. Bei halberwachsenen Schizonten beginnt die gleichfalls amitotische Vermehrung der Micronuclei, während der Macronucleus sich auflöst, worauf ähnlich wie in der ersten Reihe sich die Tochterindividuen um die Micronuclei bilden, meist unter Bildung eines Restkörpers. Nicht selten vermehrt sich auch der Macronucleus durch Knospung. Nach Beendigung der Schizogonie, durch die auch hier wieder die ganze Centralkapsel gefüllt wird, vermehren sich die Merozoitenkerne durch Amitose, auch durch multiple Teilung; hierauf folgt durch eine oder zwei »halbmitotische« Teilungen die Ausbildung der definitiven Schwärmerkerne. In beiden Reihen bildet sich um jeden Kern in dem austretenden Centralkapselinhalt ein zweigeißeliger Schwärmer, ohne Hinterlassung eines Restkörpers. Das weitere Schicksal der Schwärmer ist unbekannt.

Die Bildung der Myophrisken oder Gallertcilien erfolgt im Innern der Centralkapsel, indem ganze Merozoitenkerne isch in Myophrisken umwandeln. »Schon früh sieht man die für die ausgebildeten Elemente so charakteristische chromatinarme Mittelzone der ganzen Länge nach auftreten, welche unserer Meinung nach als Folge der partiellen Umordnung des Chromatins zu undeutlichen Chromosomen aufzufassen ist«. In andern Fällen bilden sich Myophrisken, indem mehrere der peripheren Platten der Macronuclei zu einem Streifen verschmelzen. Die ausgebildeten Myophrisken wandern den Stacheln entlang aus der Centralkapsel aus und dann in einer Zugfaser der extrakapsulären Sarkode an ein Myophriskenbündel, dem sie sich einfügen. Sie dienen wohl zur Ernährung der Zugfasern, die mechanische Arbeit zu leisten haben. Nach längerer Funktion erleiden sie eine weitgehende Veränderung ihres Chromatins, so daß sie dann oft ganz farblos werden und nur schwer von den hyalinen Zugfasern zu unterscheiden sind, in die sie eingebettet liegen.

E. Neresheimer (Wien).

Zuelzer, M., Bau und Entwicklung von *Wagnerella borealis* Mereschk. in: Arch. f. Prot. Bd. 17. 1909. S. 135—202. Taf. 6—10; 20 Textfig.

Verf. hat das interessante, gestielte skelettbildende Heliozoon in Neapel studiert. Das Tier besteht aus Kopf, Stiel und einer verbreiterten Stielbasis, die den Kern ent-

hält, der Kopf enthält ein von einer radiär gestreiften Sphäre umgebenes Centralkorn. Die Achsenfäden der Pseudopodien sind bis an Chromatinkörnchen hin zu verfolgen, die an der Peripherie der Sphäre zu liegen pflegen; diese Chromatinkörnchen stammen aus dem Centralkorn (kinetischer Kern); die Axopodien sind also auf Kernderivate zurückführbar. Die Sphäre ist von einer Membran umschlossen und von einer Plasmastrahlung umgeben, die sich auch in den Stiel hinein verfolgen läßt. Das Centralkorn ist chromatinreicher als die Sphäre; es enthält ein stark färbbares Centriol. An Centralkorn und Sphäre gehen regelmäßig zyklische Veränderungen, sehr ähnlich wie beim Centrosom des *Rhynchelmis*-Eies nach Vejdowsky und Mrazek vor sich. Der Kern ist bläschenförmig und enthält zahlreiche chromatinreiche Binnenkörper, die während des vegetativen Lebens bald zu einem Großen verschmelzen, bald wieder in mehrere zerfallen; es findet ein beständiger Substanzaustausch zwischen ihnen und dem Kernsaft statt. Das Mengenverhältnis von Plastin und Chromatin in den Binnenkörpern wechselt. Sie werden im Laufe des vegetativen Lebens zu Sekundärkernen und enthalten dann ein Nucleolo-Centrosom (Caryosom).

An solchen Kernen findet Kernknospung statt, in dem sich kleinere Sekundärkerne vom Primärkern abschnüren und dann mit der Plasmaströmung in den Kopf gelangen. Ihr Caryosom enthält ein Centriol. Sie umgeben sich mit einer Plasmaportion und wandern aus dem Kopf und durch die Nadelhülle des Skeletts nach außen, wo sie sich zu typischen Wagnerellen umbilden; das Nucleolo-Centrosom wird zum Centralkorn. Die nackten Knospen können sich vor oder nach dem Austreten aus dem Kopf teilen. Das Centriol schnürt sich hantelförmig durch, das Nucleolo-Centrosom teilt sich, während das Chromatin sich zu verknäulten Strängen anordnet; diese zerfallen in eine große Menge von Chromosomen, die sich in der Äquatorialebene anordnen. Die Centrosome wandern an die Pole, eine Strahlung wird ausgebildet (durch Umordnung des Liningerüstes); die Chromosome werden (wenn Ref. die hier nicht ganz klare Ausdrucksweise richtig interpretiert) quer gespalten. Im ruhenden Tochterkern nimmt das Centrosom wieder die centrale Lage ein.

Auch erwachsene Tiere teilen sich. Hierbei wandert alles Plasma in den Kopf; der Kern lagert sich über das Centralkorn, das sich nun unter Verlust seiner gestreiften Hülle teilt. Während der Wanderung durch den Stiel zieht sich der Kern lang aus, ebenso jeder einzelne Binnenkörper. Diese spalten sich dann in zahlreiche chromatinhaltige Plastinfasern, die sich in das in Wabenreihen angeordnete Liningerüst einlagern. Allmählich wandert alles Chromatin an die Enden der Plastinfäden, so daß die mittlere Partie chromatinfrei wird. Im Kopfe, zwischen den Hälften des Centralkorns angekommen, schnürt sich der Kern rasch durch, ohne daß das Centralkorn einen Einfluß auf die Teilung ausübt.

Diese Kern- und Centrosomteilungen wiederholen sich mehrfach; die darauf folgenden Zellteilungen bleiben zunächst unvollständig, so daß die Teilstücke noch durch Plasmabrücken zusammenhängen, worauf der so vorübergehend eine Kolonie darstellende Kopf abfällt. Die Teilstücke lösen sich später los und wachsen zu neuen Individuen heran.

In einem dritten Modus der Vermehrung sieht Verf. die Gametenbildung. Hier treten zunächst in der unmittelbaren Umgebung des Kernes 1—2 μ große stark chromatische Körnchen auf, die vermutlich in gelöstem Zustande aus dem Kern auswandern. Sie nehmen Flüssigkeit aus dem Plasma auf und enthalten bald eine Vacuole. In dem Kügelchen tritt bald ein distinktes Korn auf, das sich teilt, seine Teilstücke (Centriole) wandern an die Pole der Kugel. Die Vacuole nimmt die Mitte ein, vergrößert

sich und drängt das Chromatin des sich streckenden Kernchens auseinander, so daß eine charakteristische eigenartige Mitosenfigur entsteht. Fasern sind nicht wahrzunehmen. Details hierüber siehe im Original. Während dessen degeneriert der Hauptkern. Schließlich umgibt sich jeder der neugebildeten Kerne mit einer Plasmaportion, sie schwärmen aus und bilden je zwei Geißeln. Ihr weiteres Schicksal ist unbekannt; doch hält Verf sie für Gameten. Reduktionsteilungen wurden nicht festgestellt.

Verf. fand bei *Wagnerella* einen Dimorphismus, den sie mit dem bei den Thalamophoren bekannten vergleicht. Der Hauptunterschied besteht in der sehr wesentlich verschiedenen Größe und Dicke der Individuen. Die bisher beschriebenen Erscheinungen beziehen sich auf die »dünne Generation«. Bei der »dicken Generation« verläuft die Teilung wie bei der vorigen. Außerdem findet sich Schizogonie, bei der sich zunächst die Binnenkörper im Kern lebhaft vermehren, worauf der Kern zerfällt und jeder Binnenkörper zu einem neuen Kern wird, (ein Vorgang, der sich bei der »dünnen Generation« noch innerhalb des Primärkerns abspielt). Jeder Kern enthält ein Caryosom, das sich durch fortgesetzte mitotische Zweiteilung vermehrt, unter Mitwirkung eines Centriols unbekannter Herkunft; aus ihnen werden wieder neue Sekundärkerne; der Vorgang wiederholt sich mehrfach, bis das Tier von einer großen Anzahl bläschenförmiger Kerne erfüllt ist. Sie umgeben sich mit einer Plasmaportion und kriechen als amöboide Schwärmer aus; ein Restkörper mit dem Centralkorn geht zugrunde. Die Amöboidschwärmer bilden sich zu neuen Wagnerellen aus. Geschlechtliche Vorgänge, bzw. Bildung von Flagellosporen wurden bei dieser Generation nicht beobachtet. Es scheint also ein typischer Generationswechsel wie bei den Thalamophoren vorzuliegen. Regenerationsversuche ergaben, daß das eliminierte Centralkorn, wohl vom Kern aus, wieder ersetzt werden kann, daß es aber selbst keinen neuen Kern zu liefern vermag.

E. Neresheimer (Wien).

Borgert, A., Über Erscheinungen fettiger Degeneration bei tripyleen Radiolarien. in: Arch. f. Prot. Bd. 16. S. 1—24. 1 Taf. 4 Textfig. 1909.

Verf. beobachtete bei *Aulacantha scolymantha* Haeckel zeitweise häufig das Auftreten von hohlen Blasen in der Centralkapsel, die mit Öl- oder Fettkugeln gefüllt sind. Sie treten teils im Entoplasma, teils im Kern selber, in verschiedener Anzahl, auf. Treten sie an Stelle des Kerns, so findet man außer der fettigen Substanz auch noch Spuren von Plasma und Chromatin in ihnen, liegen sie im Plasma, so enthalten sie außer Fett nur eine wässerige Flüssigkeit. Sie sind durch eine derbe, vom Plasma gebildete Membran umschlossen, die sich durch das Hinzutreten der Kernmembran gegebenen Falles verdoppelt. Ihr Auftreten hat stets eine völlige Degeneration des Kerns, sowie das allmähliche Schwinden des Plasmas, unter Auflockerung seiner feineren Struktur, zur Folge; auch die Kapselmembran wird schließlich gelöst. Leider konnten über das Verhalten derartiger enucleierter Zellen am lebenden Objekt keine genaueren Beobachtungen angestellt werden. — Ausnahmsweise fanden sich die Einschlüsse auch im Ektoplasma. Zum Schlusse diskutiert Verf. ausführlich die vorliegende Literatur über Degenerationserscheinungen der Protistenzelle und über fettige Degeneration bei Metazoenzellen.

E. Neresheimer (Wien).

Mencl, E., Die Bakterienkerne und die »cloisons transversales« Guilliermonds. in: Arch. f. Prot. Bd. 16. S. 62—70. 1909.

Verf. polemisiert gegen die in diesem Archiv (Bd. III, S. 685) referierte Arbeit Guilliermonds, der das Vorkommen typischer Zellkerne bei den Bakterien leugnet. Mencl verwahrt sich gegen willkürliche Umdeutungen seiner Befunde und den Versuch, die als kernhaltig beschriebenen Formen, besonders das *Bacterium gammari* Vejdowsky, als nicht zu den Bakterien gehörig zu deuten. Man darf weder positive oder negative Befunde in dieser Richtung an einzelnen Arten für die ganze Gruppe verallgemeinern, noch Befunde, die an einem Stadium gemacht wurden, als für die betreffende Art während ihres ganzen Lebenszyklus gültig betrachten. Die von verschiedenen Autoren beschriebenen chromatischen Spiralen scheinen nur andere Stadien des typischen Kerns bei denselben Arten darzustellen. **E. Neresheimer** (Wien).

Awerinzew, S., Studien über parasitische Protozoen. III. Beobachtungen über die Vorgänge der Schizogonie bei Gregarinen aus dem Darme von *Amphiporus* sp. in: Arch. f. Prot. Bd. 16. S. 71—80. 1 Taf. 3 Textfig. 1909.

Die noch nicht näher bekannte Art steht offenbar der Gattung *Selenidium* nahe; sie besitzt wohlausgebildete Myoneme. Der Kern der Zelle enthält meist zwei polar angeordnete Caryosome, die durch starke Vacuolisierung in mehrere Teile zerfallen können. Bei Beginn der Schizogonie tritt zunächst in der Nähe des Kerns, dessen Membran sich stark verdünnt oder ganz schwindet, Chromatin in Form einzelner Körnchen auf. Eine Anzahl solcher Körnchen wird von einem sich gegen das übrige Zellplasma abhebenden Protoplasmabezirke umschlossen; innerhalb desselben verschmelzen die Körnchen zu einem Kern. Durch eine Reihe von Kern- und Zellteilungen vermehren sich diese in den Körper der Gregarine eingeschlossenen Zellen erheblich; sie werden zu Schizozoiten.

Die Kernteilungen sind sehr interessant; bei den ersten zeigt sich ein große Anzahl von Chromosomen, bei den späteren viel weniger. Ein dabei auftretendes Centrosom stammt aus dem Kern. In den Seitenplatten sondert sich das Chromatin in zwei getrennte Chromosomenhaufen, deren einer das aus dem Caryosom, der andere das aus dem übrigen Kern stammende Chromatin repräsentiert. Ein häufig auftretender »Zwischenkörper« stellt den Rest des Caryosoms dar. Auf späteren Teilungsstadien vereinigen sich die getrennten Chromatinteile wieder. Die fertigen Schizozoiten sind bisquitförmig; an einem Ende, das der Peripherie der Mutterzelle anliegt, befindet sich eine große Vacuole, sowie ein chromatisches Korn. Von diesem aus verläuft ein stark färbbarer Faden über den Kern weg zu einem am entgegengesetzten Pol befindlichen ebensolchen Körperchen. Die frei im Darme des Wirtes gefundenen Schizozoiten zeigen diesen Apparat nicht, woraus Verf. schließt, daß er zum Durchbohren und Verlassen der Mutterzelle dient. Diese und ihr Kern, der bisher die vegetativen Funktionen der Zelle geleistet hat, gehen dann jedenfalls zugrunde.

E. Neresheimer (Wien).

Brasil, L., Documents sur quelques Sporozoaires d'Annélides. in: Arch. f. Prot. Bd. 16. S. 107—142. Taf. 7—10. 1909.

Verf. bespricht zunächst einige neue und wenig bekannte Gregarinen, hierauf den Entwicklungszyklus des *Coccidiums Angeiocystis Audouiniae* Brasil, aus dem

Rückengefäß des Polychäten *Audouinia tentaculata* Mont. Der »Trophozoit« zeigt eine grob alveoläre Struktur; die Individuen, die zu Makrogametocyten werden, zeigen im Gegensatz zu den künftigen Mikrogametocyten, abgesehen von größerer Gestalt, viele siderophile Einschlüsse in den Alveolenwänden und ein stark lichtbrechendes Korn im Centrum jeder Alveole. Außerdem zeigen alle Throphozoiten, außer einem etwa centralen bläschenförmigen Kern mit chromatischem Caryosom und reichlichem extranucleolärem Chromatin in Form distinkter Körnchen, an einem Körperpol eine Ansammlung dunkleren homogenen Plasmas, das reichlich chromatische Körnchen enthält. Dieses Gebilde verschwindet während der Umwandlung in Gametocyten. Das Vorhandensein einer Schizogonie ist nicht sichergestellt. Die Ausbildung der Gametocyten beginnt mit einer Abrundung des Körpers und Encystierung. Bei der Ausbildung der Mikrogametocyten gibt zunächst das Caryosom sein gesamtes Chromatin an den Kern ab, wo es auf das achromatische Gerüst verteilt wird, später in Form feinster Tröpfchen an die Peripherie des Plasmas überwandert. Der achromatisch gewordene Kern geht später zugrunde. Der größte Teil des Chromatins bildet eine dünne Schicht an der Oberfläche der Zelle, ein Teil wird im Plasma gelöst. Später sammelt sich das geformte Chromatin in sechs bis acht Sekundärkernen an. Diese teilen sich durch eine sehr primitive mitosenähnliche Figur mehrfach; schließlich sammelt sich an jedem der Kerne eine sehr kleine Plasmaportion; es bilden sich die Mikrogameten mit großem kompaktem Kern und zwei Geißeln, die in dem Raum zwischen der Cystenhülle und der zusammenschrumpfenden Zelle (Restkörper) umherschwimmen und schließlich durch Verschwinden der Hülle frei werden.

Das Schicksal der Makrogametocyten konnte nicht lückenlos verfolgt werden. Hier zerfällt zunächst das Caryosom in mehrere Teile, während auch Chromatin in gelöster Form an das Kernreticulum abgegeben wird. Hierauf verschwindet die Kernmembran, der Kern zieht sich spindelförmig in die Länge; das Chromatin ordnet sich, mit Ausnahme der Caryosomfragmente, in Form eines langgezogenen Spirems an der Oberfläche der Spindelfigur an, und bildet die Spindelfasern. Achromatische Fasern und Centrosome sind nicht zu sehen. Hierauf werden die Caryosome ins Plasma ausgestoßen und dort aufgelöst. Verf. betrachtet diese Chromatinabgabe als einen Reifungsvorgang. Die Caryogamie wurde nicht beobachet, doch hält Verf. kurze Spindeln, von einer dicken Äquatorialplatte umschlossen, die er bei einigen Makrogameten beobachtete, für Befruchtungsspindeln. In den Oocysten findet eine zweimalige Kernteilung statt, hierauf die Bildung von vier Sporocysten, in denen je etwa 30 Sporozoiten entstehen.

E. Neresheimer (Wien).

de Beaurepaire-Aragao, H., Über eine neue Amöbenart, *Amoeba diplomitotica*. in: Memorias do instituto Oswaldo Cruz, Manguinhos, Rio de Janeiro. Vol. 1. 1909. S. 33—42, Tab. 2.

Die Amöbe ist ausgezeichnet durch das Vorkommen von zwei verschiedenen Modis der Kernteilung; bei beiden bleibt das Chromatinmaterial des Caryosoms dauernd getrennt von dem des umgebenden Kerns. Auch bleiben im Ruhekern die Chromosome beider Bestandteile individualisiert. Im ruhenden Kern sind direkt an der Kernmembran die Chromosome des extranucleolären Chromatins regelmäßig konzentrisch angeordnet; das centrale Caryosom enthält ins Plastin eingelagert die stäbchenförmigen Chromosome und ein Centriol. Bei der vegetativen Teilung, die eine »doppelte Mitose«

vorstellt, teilt sich zunächst das Centriol, das Caryosom verlängert sich, während die Chromosome des Außennucleus sich ringförmig um seinen Äquator gruppieren. Die Chromosome des Caryosoms teilen sich in zwei Gruppen, die Polplatten, die durch achromatische Fasern und den stark mit EH. schwärzbaren Verbindungsfaden der Centriole verbunden sind; die Chromosome des Außennucleus ordnen sich zwischen die Polplatten als Äquatorialplatte ein. Die Polplatten mit ihren Centriolen rücken immer weiter auseinander, die auf den Fasern angeordneten Chromosome des Außennucleus sondern sich in zwei Tochterplatten und ordnen sich später um die Polplatten herum an, so daß sie bei den Tochterkernen wieder die Caryosome umgeben.

Der zweite Teilungsmodus geht wesentlich rascher vor sich; sein Resultat vergleicht Verf. mit einer Schizogonie. Hierbei schnürt sich das Caryosom amitotisch durch; an der Stelle der Einschnürung treten achromatische Fäden auf, die eine deutliche Spindelfigur bilden, in deren Äquator sich die Chromosome des Außennucleus einordnen, um sich später in zwei Tochterplatten zu sondern. Nach der definitiven Trennung der beiden Tochtercaryosome umgeben wieder diese Chromosome dieselben, sodaß der Ruhekern wieder die oben geschilderte Struktur zeigt. In beiden Fällen verschwindet während der Kernteilung die Kernmembran vollständig. Eine Teilung der einzelnen Chromosome scheint nicht beobachtet worden zu sein.

E. Nereshcimer (Wien).

de Beaurepaire-Aragao, H., u. A. Neiva, A contribution to the study of the intraglobular parasites of lizards. Two new species of *Plasmodium*, *Pl. diploglossi* n. sp. and *Pl. tropiduri* n. sp. in: Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, Manguinhos, Rio de Janeiro. Vol. 1. p. 44—50, Tab. 3. 1909.

Pl. diploglossi liegt als kleiner runder Körper mit ringförmigem Kern in den Erythrocyten, wächst dann aber so heran, daß die ganze Zelle ausgefüllt und der Kern der Wirtszelle völlig umschlossen wird; der Körper des Parasiten zeigt sich dann erfüllt von kleinen Kernen und Pigmentkörnchen; die Schizogonie tritt ein und liefert bis zu 40 Individuen. Einmal fanden Verff. freie Schizozoiten zwischen den Blutzellen. Die Makrogameten zeigen einen Kern und in dessen Umgebung meist zwei bis drei kleinere Chromatinmassen; das Pigment ist im Körper zerstreut. Die Mikrogametocyten sind kleiner; vom kleinen runden Kern gehen radiär Züge von Chromatinpartikeln ins Plasma.

Pl. tropiduri bleibt kleiner und füllt nicht die ganze Wirtszelle aus; bei der Schizogonie entstehen etwa 12 Individuen. Auch hier wurden Makro- und Mikrogametocyten beobachtet. Die Untersuchungen wurden hauptsächlich an Giemsapräparaten ausgeführt.

E. Nercsheimer (Wien).

Elmiassan, M., Sur l'*Amoeba blattae*. in: Arch. f. Prot. Bd. 16, 1909. S. 143—163. 7 Textfig. Taf. 11.

Verf. bestreitet zunächst die von Schubotz 1905 bestätigte Angabe Bütschlis, daß bei dieser Amöbe eine Sonderung in Ento- und Ektoplasma fehle. Die von Bütschli beschriebene fibrilläre Struktur des Plasmas ist durch Falten der Oberfläche vorgetäuscht. Der Kern enthält in einer peripheren, mit der Membran konzentrischen Schicht die ins

Reticulum eingelagerten Chromatinkörnchen, die centrale Partie zeigt nur das achromatische Netzwerk. An der Grenze beider Schichten finden sich große Amphinucleolen. Verhältnismäßig häufig beobachtet man bei unter normalen Verhältnissen lebenden Individuen Ausstoßung des Kerns. Unter den Propagationscysten, die mit dem Kote des Wirttieres entleert werden, unterscheidet Elmiassan zwei Formen, die er als helle und dunkle Cysten beschreibt. In beiden Fällen geht der Encystierung die Ausstoßung der Nahrungsballen und die Abgabe von Flüssigkeit voraus, so daß das Volumen des Tieres auf 50 bis 30 % vermindert wird. Bei den dunklen Cysten zeigen sich kurz vor der Encystierung im Kern mehrere große chromatische Nucleolen. Gleich nach der Bildung der Cystenhülle platzt der Kern, sein Inhalt verteilt sich im Plasma, das nun sehr stark färbbar wird (Sporetienbildung). Hierauf treten kleine Kerne im Plasma auf, die sich zu teilen scheinen. Sie vermehren sich beständig, während das Sporetium sich vermindert. In einigen Fällen zeigen diese Kerne stark färbbare halbmondförmige Calotten, die an die bei *Opalina* beschriebenen Gebilde erinnern, und, wie es scheint, gleich diesen als stark färbbare Kügelchen ins Plasma ausgestoßen werden (Reifungserscheinung?) Die Zahl der Kerne nimmt zu, bis sie etwa 72 beträgt; ihre Größe nimmt indessen ab. Sie sammeln sich in einem stärker färbbaren, vom übrigen Plasma scharf gesonderten Bezirk. Die hellen Cysten schlagen von Anfang an einen ganz andern Weg ein. Der Kern wird sehr groß und elliptisch; das gesamte Chromatin ist sehr fein verteilt. Es bildet sich eine sehr undeutliche Spindel; der Kern teilt sich in zwei, die nun ihrerseits Spindeln mit stark färbbaren Polplatten bilden und sich wieder teilen. Durch drei weitere Teilungen, bei denen die Spindeln völlig den bei der Konjugation der Ciliaten auftretenden Micronucleus-Spindeln gleichen, steigt die Zahl der Kerne in den hellen Cysten auf 32.

Centrosome oder Sphären treten bei keiner Kernteilung bei *Amoeba blattae* auf. Die Kernmembran bleibt bei den Teilungen nicht erhalten. Degeneration der Kerne ist bei den hellen Cysten häufig zu beobachten.

Die Bedeutung der zweierlei Cystenformen ist nicht klar. Verf. stellt drei Hypothesen auf: 1) es handelt sich um zwei verschiedene, aber in ihren vegetativen Stadien nicht zu unterscheidende Amöbenarten, 2) die beiden Cysten enthalten Gameten verschiedenen Geschlechts, 3) die dunklen Cysten produzieren die Gameten, die hellen dienen der Schizogonie. Dieser letzten Hypothese gibt Verf. (und Ref.) den Vorzug.

E. Neresheimer (Wien).

Mercier, L., Le cycle évolutif d'*Amoeba blattae* Bütschli. (Note préliminaire). in: Arch. f. Prot. Bd. 16. S. 164—168. 1 Textfig. 1909.

Verf. gibt eine kurze Übersicht über den Generationszyklus der Amöbe; seine Angaben sind mit den in der oben zitierten Arbeit Elmiassans enthaltenen meist völlig unvereinbar.

Die multiplikative Fortpflanzung geschieht durch Zweiteilung, bei der die Kernveränderungen, soweit sie das Chromatin betreffen, einer Mitose entsprechen, aber keine achromatische Spindel auftritt und die Kernmembran erhalten bleibt. Aus den fortgesetzten Zweiteilungen resultieren schließlich kleine Individuen, die Gamonten. In ihnen findet eine Kernvermehrung statt, bei der die erste Teilung noch dem oben angegebenen Modus entspricht; bei den folgenden Teilungen aber treten Spindeln und Centrosome auf; die Chromosome sind punktförmig; die Kernmembran bleibt erhalten.

Im Stadium von 8 Kernen encystieren sich die Gamonten meist. In der Cyste sammeln sich die Kerne im Centrum, teilen sich noch einmal mitotisch, dann noch weiter, wobei sich der Modus der Kernteilung immer mehr der Amitose nähert; die größte Kernzahl, die Verf. feststellte, beträgt 54. Im Darmkanal des neuen Wirtes schlüpfen diese Tiere aus, jeder Kern mit einer Plasmapartie wird zu einem amöboiden Gameten, die miteinander kopulieren; es scheint Heterogamie vorzuliegen. Die Caryogamie folgt; das Syncaryon nimmt wieder den Charakter der ursprünglichen Amöbenkerne an; der Zyklus ist geschlossen.

E. Neresheimer (Wien).

Burck, C., Studien über einige Choanoflagellaten. in: Arch. f. Prot. Bd. 16. S. 169—186. 2 Textfig. Taf. 12. 1909.

Verf. bespricht eingehend die Organisation einiger Arten, Schleimhülle, Stiel, Gehäuse, Vacuolen, Kern usw. Bei den wenigen Kernteilungsgebilden, die er gesehen hat, tritt eine Centralspindel auf. Die Geißel entspringt an einem Basalkörperchen (Blepharoplast), der bei *Salpingoeca amphoridium* J. Cl. durch einen feinen Faden mit dem Kern verbunden ist. Bei Besprechung des Kragens polemisiert Burck hauptsächlich gegen die Darstellung von Francé (1897) und Ehrlich (1908), nach der der Kragen eine spiralig aufgerollte Membran darstellen soll. Vielmehr ist nach ihm der Kragen, entsprechend den älteren Darstellungen (Clark, Stein, Kent, Bütschli) eine geschlossene, umgekehrt kegelförmige protoplasmatische Membran.

Die Nahrungsaufnahme geht folgendermaßen vor sich: die durch die von der Geißel verursachte Strömung herbeigestrudelten Partikelchen bleiben an der Außenfläche des Kragens haften. Die Schleimhülle, die dicht an den Kragen anschließt, hebt sich an einer Stelle von ihm ab und legt sich dann mit dem oberen Rande wieder an ihn an, so daß die hier befindlichen Nahrungskörper in einen Hohlraum, die »Empfangsvacuole« Bütschlis, eingeschlossen wird. Diese Vacuole rückt mit dem eingeschlossenen Fremdkörper nach abwärts, bis er mit dem Plasma in Berührung kommt und nun in eine wirkliche Nahrungsvaculoe einbezogen wird. Indem diese Abhebung rund um den ganzen Kragen herumläuft, wird dieser allmählich vollständig abgesucht.

E. Neresheimer (Wien).

Neresheimer, E., Über das Eindringen von *Lankesterella* spec. in die Froschblutkörperchen. in: Arch. f. Prot. Bd. 16. S. 187—193. 16 Textfig. 1909.

Der Vorgang wurde in vivo beobachtet. Die einem Erythrocyten nahe gekommene *Lankesterella* wirkt (chemisch?) auf diesen ein, so daß die dem Parasiten zugewendete Seite der Blutzelle amöboid wird und ihn aktiv in sich aufnimmt, ähnlich wie eine Amöbe einen Nahrungskörper.

E. Neresheimer (Wien).

Dogiel, V., Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. III. Über die Sporocysten der *Coelom-Monocystideae*. in: Arch. f. Prot. Bd. 16. S. 194 bis 208. 7 Textfig. 1909.

Verf. teilt die Cölom-Monocystideen nach dem Bau der Sporocysten in zwei Familien ein:

1) *Choanosporidae*, Sporocysten heteropolar, mit mehr oder weniger ausgesprochenem Fortsatz an einem Körperende und einem deutlich ausgesprochenen Trichter am andern Pol; kommen ausschließlich in marinen Wirten vor.

2) *Homopolaridae*, mit gleichen Polen und vollständig symmetrisch, meist mit nur geringen Verdickungen der Exosporids an beiden Enden der Sporocyste. Ausschließlich in im Süßwasser oder auf dem Festland lebenden Wirten.

Vereinzelte Angaben, die dieser Einteilung zu widersprechen scheinen, sucht Verf. als Irrtümer nachzuweisen. Zum Schlusse bespricht er die für einzelne festsitzende Cölomgregarinen beschriebenen Epimerite. Da die Cölomgregarinen, wenn sie außen an der Darmwand festsitzen, dies mit dem Hinterende tun (wenn man als Vorderende das den Darmgregarinen zur Festheftung dienende Ende bezeichnet), so ist ein eventuell hier auftretendes Festheftungsorgan nicht dem Epimerit der Darmgregarinen homolog; Verf. schlägt dafür die Bezeichnung »Apomerit« vor.

E. Neresheimer (Wien).

Reichenow, E., Untersuchungen an *Haematococcus pluvialis* nebst Bemerkungen über andere Flagellaten. in: Arbeiten a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 33. S. 1—45, 5 Textfig., Taf. 1 u. 2. 1909.

Verf. hat hauptsächlich sehr interessante Untersuchungen über den roten Farbstoff, das Hämatochrom, und über das Volutin ausgeführt. Aus seinen Experimenten geht hervor, daß das Auftreten des Hämatochroms verursacht wird durch den Mangel bestimmter Stoffe im umgebenden Medium; hauptsächlich kommt hier der Stickstoff, daneben auch der Phosphor in Betracht. Bei reichlichem Vorhandensein dieser Stoffe verschwindet das Hämatochrom und die Zelle ergrünt. Der Einfluß des Lichtes (Richtung des Lichteinfalls und Farbe des Lichtes) erstreckt sich nicht auf die Bildung, sondern nur auf die Anordnung des Farbstoffs in der Zelle. Ähnlich verhält es sich mit dem Hämatochrom bei *Euglena sanguinea*; selbst bei der normalerweise grünen *Euglena gracilis* gelang es, durch Züchtung im stickstofffreien Medium nicht unbeträchtliche Mengen eines roten Farbstoffes im Körper auftreten zu lassen.

Volutinkörner finden sich bei den erwähnten Flagellaten sowie auch bei *Chlamydomonas*. Sie sind mit Chromatinfarben sehr stark färbbar, stammen aber nicht aus dem Kern, sondern entstehen im Plasma. Verf. zitiert die Anschauung Giemsas, nach der die Färbbarkeit des Chromatins auf seinem Gehalt an Metaphosphorsäure bedingt ist, und nimmt an, daß auch die Volutinkörner aus einem phosphorhaltigen Stoff bestehen. Dementsprechend nimmt bei Hämatokokken (und Bakterien), die in phosphorfreiem Medium gezüchtet werden, der Volutingehalt ständig bis zur Erreichung eines Minimums ab, Bei Züchtung im phosphorhaltigen Medium steigt die Größe der einzelnen Volutinkörner allmählich bis zu einem Maximum an, dann tritt, wohl infolge Erschöpfung der Nährlösung, eine Einschmelzung der Körner auf. Die einzelnen Körner werden von innen heraus gelöst, und zwar hauptsächlich an der dem Kern zugewandten Seite. Im Lebenslauf der einzelnen Hämatococcuszelle zeigt sich, daß sie grade vor und während der Teilung besonders arm an Volutin sind, und daß dieses besonders schwach färbbar ist; nach der Teilung tritt wieder eine Vermehrung des Volutingehaltes ein.

Aus diesen Tatsachen, sowie aus der Beobachtung, daß volutinhaltige Organismen auch bei fortgesetzter Kultur keine Depressionserscheinungen wie z. B. die Ciliaten zeigen, folgert Verf., daß bei diesen Organismen das von Hertwig und seiner Schule angenommene funktionelle Kernwachstum, das eben schließlich die Kernplasmarelation

ungünstig verschiebt und dadurch die Depression hervorruft, nicht eintritt: der Kern weist die im Plasma im Überschuß gebildeten Nucleinsäureverbindungen zurück, und sie werden in Form von Volutinkörnern aufgespeichert. Zum Teilungswachstum des Kernes werden sie dann wieder herangezogen. Ein derartiger Organismus kann also nicht durch Überernährung zur Depression gebracht werden, sondern nur durch die Unmöglichkeit, Volutin zu bilden: in den phosphorfreien Kulturen stirbt die Zelle in dem Augenblick ab, da die letzte Spur des Reservestoffs verschwindet. Auch manche Erscheinungen an der Bakterienzelle stimmen mit diesen Anschauungen überein. Bei der Kernteilung gibt zunächst der Nucleolus sein gesamtes Chromatin an den Kern ab und verschwindet schließlich, in der sich dann bildenden Spindel treten 32 Chromosome auf. Die Zellteilung kann schon vor der Kernteilung beginnen. Sie ist eine Längsteilung; aber während des Teilungsaktes tritt infolge der Starrheit der Hülle eine Drehung des Zelleibes auf, die dann eine Querteilung vortäuscht. Verf. sucht nachzuweisen, daß auch bei allen Chlamydomonasarten die Teilung eigentlich eine Längsteilung ist; bei rundlichen Formen bleibt dies deutlich bemerkbar, bei länglichen tritt im Laufe der Teilung die Drehung ein, bei sehr langen Arten muß sie schon vor Beginn der Teilung einsetzen.

Palmellenbildung tritt bei beginnendem Mangel an Nährstoffen in der Kultur auf. Meist teilen sich diese in 16 Zellen. Gelegentlich treten sehr kleine Formen, die Mikrogonidien auf, vermutlich Gameten. Doch gelang es nicht, ihr Schicksal zu verfolgen.

E. Neresheimer (Wien).

Prowazek, S., Konjugation von *Lionotus*. in: Zool. Anz. Bd. 34, S. 626—628, 15 Textfig. 1909.

Lionotus parvus n. sp. besitzt einen zweigliedrigen Macronucleus und einen Micronucleus. Bei der Konjugation trennen sich die beiden Macronucleusteile, ihr Inhalt wird körnig. In den Micronucleusspindeln nimmt das Chromatin zunächst Tetradenform an. Bei der Teilung der Spindel bleibt ein größeres Chromosom in der Äquatorialebene etwas zurück. Durch zweimalige Teilung entstehen 3 Reduktionskerne und einer, der sich in den stationären und den Wanderkern teilt; das Syncaryon teilt sich abermals zweimal; von den vier Kernen werden zwei zu Placenten, (die je ein Caryosom enthalten und dann verschmelzen; die Caryosome sind manchmal noch nach der Verschmelzung zu sehen). Der dritte Kern wird zum Micronucleus, der vierte degeneriert; er stellt einen verspäteten vierten Reduktionskern dar. Der weibliche Kernanteil, der stationäre Kern, bildet seine zwei Reduktionskerne vor der Caryogamie; der männliche Wanderkern einen vorher, einen nachher.

E. Neresheimer (Wien).

Prowazek, S., Bemerkungen zu einer Theorie der Cytomorphe. in: Zool. Anz. Bd. 34, S. 712—717, 5 Textfig. 1909.

Verf. trägt in diesem kurzen Aufsatz seine Ansichten in so konzentrierter Form vor, daß sie vollständig referieren so viel wie sie wörtlich abschreiben hieße.

Der Kern der meisten Protozoen ist auf den bläschenförmigen Typus zurückzuführen, er besteht aus Caryosom, Centriol und Kernzone. Das Caryosom ist als ein zweiter Kern mit besonderem Plastin, Chromatin und Centriolen aufzufassen.

Die Basalkörper der Cilien bei den Ciliaten dürften aus multiplen Teilungen der Centriole der Macronuclei hervorgegangen sein. Von ihnen aus gehen bei manchen Ciliaten Stützfilamente ins Plasma: gestaltverleihende Elemente im Sinne Koltzoffs.

Zu diesen formativen Gebilden gehören auch die bei Flagellaten auftretenden, mit dem Centriol des Caryosoms in Zusammenhang stehenden Stützfibrillen, Achsenstäbe, Randfibrillen der undulierenden Membran usw., sowie die Axopodien der Heliozoen. Außerdem liefern die Centriole bzw. Basalkörper noch die temporären Teilungsorganoide der Kerne in Form der extra- oder intranukleären Spindel (Centrodesmose, Centralspindel), ferner die elastischen Achsenfäden der Cilien und Geißeln. Die Centriole sind kontinuierliche Gebilde. Selbst beim Zugrundegehen des größten Teiles des Caryosoms bleiben sie erhalten (Plasmodiophora, Myxobolus). Bei der Encystierung von *Bodo* ist das Centriol auch in der Cyste noch nachweisbar, ebenso bleibt bei der Encystierung von *Colpoda* die Membran mit den Basalkörpern dauernd bestehen; sie stellt das einzige Punctum fixum für die Morphe dar. Durch dünne Lösungen von taurochlorsaurem Natrium kann man das Plasma zum Ausfließen bringen, während die formgebende Pellicula mit den Basalkörpern erhalten bleibt. (Die kontraktile Vacuole besitzt eine resistente, isolierbare Niederschlagsmembran.) Die Centriole stehen fast immer im Teilungswachstum (Diplosom). »Die Centrodesmose, die sich zwischen ihnen ausspannt, befindet sich gleichsam in einem Tonuszustand, und sobald die Morphespannung im umgebenden Protoplasma, die wohl durch die Zellipoide bedingt wird, eine Änderung erleidet, zertrennt die Centralspindel oder Centrodesmose den ‚Kern‘, indem sie sich fibrillär umbildet.« Zellteilung, Bewegung, Cytolyse und Agglutination sind in erster Linie nur aus physikalischen Kapillaritäts- und Kolloidgesetzen abzuleiten. Die Teilung kann keine Folge der spezifischen Kernplasmaspannung (R. HERTWIG) sein, sondern »eine periodische Funktion eines physikalisch wirkenden Stoffes, der mit den Spermatozoen- oder Mikrogametenblepharoplastcentriolen in die Zelle hineingelangt. Die männlichen Zellen sind gleichsam biologisch abnorm gewordene Träger dieser gelbildenden Plasmafaktoren, die sonst durch Einfluß der Salze, Gifte und Säuren, Hunger usw. zur Tätigkeit angeregt werden.«

Die Centriolenteilungsebene ist stets um mindestens 90° zu der früheren Richtung gedreht; wo also die erste Teilung der Centriole permanent geworden ist, so daß sich zwischen den Centriolen des Caryosoms und des Blepharoplasts dauernd eine Centrodesmose ausdehnt und die Gestalt (des Flagellaten) mitbestimmt, kann die nächste Teilung keine Querteilung sein.

Nach BORGERT besitzen die chromosomenartigen Kernelemente bei Tripyleen einen hohen Grad von Selbständigkeit (»Polyenergide Kerne«, HARTMANN). Die Morphe dieser Chromosomkerne, in die der Kern aufgelöst zu denken ist, wird wie bei den Spirochäten und Spermien von besonderen fibrillären Differenzierungen bestimmt. Da Fibrillen sich nicht teilen, sondern de novo entstehen, bedarf die Lehre von der Längsspaltung der Chromosome einer Revision.

E. Neresheimer (Wien).

CHATTON, E., Sur un trypanosomide nouveau, *Leptomonas agilis*, d'un réduve indigène (*Harpactor iracundus* Scop.) in: Compt. rend. soc. Biol. Tome 66. p. 981—982. 1909.

—— Sur un trypanosomide nouveau d'une Nyctéribie, et sur les relations des formes *Trypanosoma*, *Herpetomonas*, *Leptomonas* et *Crithidia*. ibid. Tome 67. p. 42—44. 1 Fig. 1909.

Leptomonas agilis hat einen kompakten Kern, der rundliche Blepharoplast liegt weiter vorn. An der Basis der Geißel befindet sich ein chromatisches Korn (Centro-

soma?), das mit dem Blepharoplast durch eine spindelartige Bildung verbunden ist. *Crithidia nycteribiae* hat einen bläschenförmigen Kern oft mit Caryosom; dicht vor diesem liegt der stabförmige, leicht gebogene Blepharoplast. Das Vorderende des Körpers verdünnt sich und plattet sich zu einer undulierenden Membran ab, deren eine Kante etwas verstärkt ist und die Geißel darstellt. Die unterscheidenden Merkmale von *Crithidia* und *Herpetomonas*: Vorhandensein einer undulierenden Membran oder einer einfachen Geißel, Lage des Blepharoplasten zum Kern, sind abhängig von der Beschaffenheit des umgebenden Mediums.

E. Neresheimer (Wien).

Léger, L. u. O. Duboscq, *Perezia lankesteriae* n. g., n. sp., *Microsporodie parasite* de *Lankesteria ascidiae* (Ray-Lank.). in: Arch. d. Zool. expér. et génér. Sér. 5. Tome 1. Notes et Revue. p. 89—93. 1 Textfig. 1909.

Perezia lankesteria lebt ausschließlich in den extrazellulären Stadien der genannten Gregarine; und zwar nur im Cytoplasma, niemals im Kern, der auch keinerlei Veränderung gegenüber nicht infizierten Exemplaren zeigt. Die vegetativen Stadien des Mikrosporidiums stellen anfangs einkernige ovoide Körperchen dar, in denen der Kern sich durch deutliche Caryokinesen vermehrt, so daß zunächst Plasmodien mit undeutlich gegen das Plasma des Wirtes abgesetzten Konturen entstehen. Nach Bildung von 10 bis 12 Kernen isoliert sich jeder Kern mit einer Plasmapartie und bildet einen Pansporoblasten, der sich zunächst in zwei Teile teilt. Jedes Teilstück liefert eine typische Glugeidenspore mit Polkapsel und mehreren Kernen, unter denen meist die Kerne der Hülle und der Kapselkern deutlich zu unterscheiden sind. Anormalerweise können in einem Pansporoblasten statt der zwei Sporen einfache große Sporen entstehen.

E. Neresheimer (Wien).

Léger, L. u. O. Duboscq, Protistes parasites de l'intestin d'une larve de »*Ptychoptera*« et leur action sur l'hôte. in: Bull. de l'Acad. roy. de Belgique, Classe des sciences, Tome 8. p. 885—902. Planches 1 à 4. 1909.

In den Präparaten von einem Ptychopteralarvendarm fanden sich: eine Gregarine, eine Mikrosporidie, eine Cercomonadine, eine Spirochäte.

Die Gregarine, *Pileocephalus striatus* n. sp. ist mit einem keulenförmigen Epimerit in die Epithelzelle des Darmes eingesenkt und ruft eine funktionelle Hypertrophie dieser Zelle hervor, ohne sie sichtbar zu schädigen. Der Kern der Wirtzelle wird beiseite gedrängt und vergrößert sich wesentlich, gleichfalls ohne auffällige Änderung seiner Struktur. Im Plasma treten zeitweilig kleine Körperchen mit einem siderophilen Korn im Centrum auf. Im Plasma des Epimeriten findet sich öfters ein bläschenförmiges Gebilde mit siderophilen Körperchen im Centrum, das sich vielleicht dem Protomeritkern von *Pterocephalus* vergleichen läßt. Der eigentliche Zellkern liegt oft im Protomerit statt im Deutomerit. Cysten mit zwei gleich großen Individuen kamen zur Beobachtung, in denen sich schon die Anfänge der Kernvermehrung (Gametenbildung) zeigten. Die Ruhekerne zeigen deutliche Centrosomen mit Strahlung.

Die Mikrosporidien, *Gurleya Francottei* n. sp. erfüllen die Epithelzellen in solchen Massen, daß diese mechanisch auf das Doppelte vergrößert erscheinen, während das Cytoplasma der Wirtzelle fast ganz verdrängt ist; ihr Kern hypertrophiert proportionell der Menge des Parasiten; später tritt Chromatolyse und Caryolyse ein. Die Schizogonie findet durch beständige Zweiteilung ohne Plasmodienbildung statt. Der Kern dieser Stadien ist bläschenförmig mit centralem Caryosom; dem Kern liegt ein Centrosom dicht an, oft in Form einer Calotte, der Kernmembran angepreßt. Die Kernteilung ist mitotisch; in den Spindeln verbindet ein axiales Chromosom die Tochterplatten. Daneben finden sich größere Pansporoblasten, die vielleicht aus einer Gametencopulation hervorgegangen sind. Durch zweimalige Kernteilung wird der Pansporoblast vierkernig; die Bildung der vier birnförmigen Sporen, die kreuzförmig mit den breiteren Enden gegeneinander liegen, ist schwer in ihren Einzelheiten zu verfolgen.

Crithidia campanulata Léger kommt frei im Darmlumen vor und zeigt einen quer liegenden Blepharoplast, von dem die Geißel ausgeht. Festsitzende Stadien sind mit der verkürzten Geißel in die Epithelzellen eingebohrt.

E. Neresheimer (Wien).

Jollos, V., Multiple Teilung und Reduktion bei *Adelea ovata* (A. Schneider). in: Arch. f. Prot. Bd. 15. S. 249—262. 1 Textfig. Taf. 23 u. 24. 1909.

Das Caryosom der weiblichen Schizonten zeigt deutlich kernartige Struktur; selten ist im Ruhezustand ein Centriol in ihm nachzuweisen. Bei der Schizogonie teilt sich zunächst das Caryosom, indem es von dem sich teilenden Centriol »zerstemmt« wird. Die Centriole bleiben lange Zeit durch eine Centrodesmose verbunden. In seltenen Fällen kommt es bei der Caryosomteilung zur Bildung einer deutlichen mitotischen Figur mit Spindelfasern und einer Art Äquatorialplatte. Das Außenchromatin scheint sich an diesen Vorgängen nicht zu beteiligen. Im weiteren Verlauf folgt auf die Caryosomteilung entweder gleich die Kernteilung, so daß die Schizogonie aus einer Reihe von Zweiteilungen des Kerns besteht, in deren Verlauf allmählich die gesamte chromatische Substanz auf die Caryosome konzentriert wird, oder es teilen sich zunächst die Caryosome mehrfach in der beschriebenen primitiv-mitotischen Weise weiter, so daß der einheitliche Kern schließlich eine größere Anzahl von Caryosomen enthält. Diese Caryosomteilungen können auch ausgesprochen heteropol sein, so daß vom Caryosom kleine Teilstücke abgeschnürt werden, die sich ihrerseits nicht mehr weiter teilen. Die Kerndurchschnürung erfolgt dann in multipler Weise. Ähnlich ist die multiple Teilung schon von Schaudinn und Siedlecki beschrieben worden. Hierauf folgt die Ausbildung der Kerne, indem die Caryosome ihr Chromatin an das Kerngerüst abgeben, und die Loslösung der Merozoiten. Das Caryosom läßt sich durch die ganze Schizogonie verfolgen (gegen Siedlecki); es erfolgt im Laufe der Schizogonie ein zyklischer Auf- und Abbau des Caryosoms. Es ist ein vollkommener Kern und kann weder nur vegetatives, noch nur generatives Chromatin enthalten.

Die Schizogonie der männlichen Schizonten erfolgt ganz ähnlich wie die der weiblichen, nur wesentlich rascher.

»Die multiple Zerfallsteilung beruht bei *Adelea ovata* auf dem Auseinanderrücken der selbständigen Elemente eines infolge einer Reihe primitiv-mitotischer intranucleärer Caryosomdurchschnürungen »polyenergid« (Hartmann) gewordenen Kernes«.

Die von SIEDLECKI für die Makrogametocyten derselben Form beschriebene »épuration nucléaire« konnte vom Verf. nicht nachgewiesen werden und scheint normalerweise nicht vorzukommen; vielleicht handelt es sich um einen pathologischen Prozeß. Dagegen findet sich bei den Makrogametocyten, schon bevor sich ein Mikrogamet anlegt, eine Reifungsteilung in Form einer wie es scheint amitotischen Abschnürung eines kleinen Teiles von Kern und Caryosom, die nebst einer kleinen Plasmaportion ausgestoßen werden. Eine zweite Reifeteilung konnte nicht nachgewiesen werden.

E. Neresheimer (Wien).

ROSENBUSCH, F., Trypanosomen-Studien. in: Arch. f. Prot. Bd. 15. S. 263—296. Taf. 25—27. 1909.

Verf. untersuchte *Haemoproteus* und *Leucocytozoon* aus dem Steinkauz, sowie mehrere Säugetier-Trypanosomen, und zwar Blut- und Kulturformen, nach einer vereinfachten Modifikation der Methode von BREINL (feuchte Behandlung der Ausstriche, modifizierte Eisenalaun-Färbung). Die Methode ergibt nicht unwesentliche Korrekturen und Bereicherungen der bisher an trockenen ROMANOWSKY- bezw. GIEMSA-Präparaten gemachten Befunde. Der Hauptkern besteht aus einem kompakten Caryosom, das ein Centriol enthält. Dies ist umgeben von der Kernsaftzone mit Liningerüst und Chromatinkörnchen. An der Innenseite der Kernmembran liegen große Chromatinbrocken, die den »peripheren Chromatinkomplexen« SCHAUDINNS gleichzustellen sind. Der Blepharoplastkern enthält einen dem Caryosom gleichzustellenden kompakten Binnenkörper, der bisher allein als Blepharoplast bezeichnet wurde; er ist gleichfalls von einer (bisher meist als Vacuole bezeichneten) Kernsaftzone mit Liningerüst, Chromatinkörnern und Kernmembran umgeben. Der Kernmembran liegt das Basalkorn der Geißel an.

Am Blepharoplastkern wurde mitotische Teilung beobachtet, als endgültiger Beweis seiner Kernnatur. Bei *Haemoproteus* findet sich in der Kernsaftzone des Hauptkernes öfters ein Kranz von Chromatinkörnchen, die mit einem chromatischen Faden verbunden sind. Die von SCHAUDINN beschriebenen 8 Chromatinelemente des Caryosoms sind nicht nachzuweisen; es besteht manchmal aus 2 bis 3 Teilen. Das gesamte Chromatin scheint eine Migration vom Centrum aus nach der Peripherie durchzumachen, wo es im Plasma in Form von Chromidien ausgeschieden wird. Das Caryosom des Blepharoplastkerns besteht im Gegensatz zu verwandten Formen aus zwei Körpern, die durch eine helle Spalte getrennt sind. Vor der Teilung sammelt sich das Gesamtchromatin des Hauptkerns in dem sich vergrößernden Caryosom. Nach der Teilung des Centriols und der Wanderung der Tochtercentriole an die Pole nimmt das Caryosom zunächst Spindelform an; später differenzieren sich in dieser eine Äquatoriolplatte aus zahlreichen miteinander verbackenen Chromosomen, Polplatten, in die die Centriole eingeschlossen sind, und achromatische Fasern heraus. Nach dem Auseinanderrücken der Tochterplatten, die mit den Polkörpern verschmelzen, kollabiert der achromatische Apparat und imprägniert sich mit Chromatin, so daß das Bild einer hantelförmigen direkten Teilung des Caryosoms entsteht. Nach der Rückbildung der Spindel wird der Außenkern durchschnürt, wobei die Kernmembran erhalten bleibt. Bei der Teilung des Blepharoplastkerns verschmelzen zunächst die beiden Teile des Binnenkörpers, dieser bildet eine Spindel mit Centrosomen, Äquatorialplatte und Polplatten. Nach der Bildung der Tochtercaryosome erfolgt eine Drehung der Teilungsfigur um 90° (und zuweilen sofort eine weitere Teilung der Binnenkörper, so daß 4 Binnenkörper

tetradenartig aneinanderliegen). Ein Tochter-Binnenkörper steht durch eine Fibrille mit dem Basalkorn der alten Geißel in Verbindung; der andere erzeugt durch heteropole Teilung ein neues.

Bei *Trypanosoma rotatorium* bilden sich durch rasch aufeinanderfolgende Teilungen beider Kerne multinucleäre Formen, in Verbindung mit jedem Blepharoplastkern entsteht eine neue Geißel (die alte Geißel wird abgeworfen), und es folgt eine multiple Zellteilung. Die Zweiteilung erfolgt ähnlich wie bei *Haemoproteus*.

Bei verschiedenen Formen kommen gelegentlich anormale Teilungen vor, bei denen ein Individuum nur einen Hauptkern oder nur einen Blepharoplastkern mitbekommt; in beiden Fällen sind diese Zellen nicht lebensfähig.

E. Neresheimer (Wien).

Berliner, E., Flagellatenstudien. in: Arch. f. Prof. Bd. 15. 1909. S. 297—325. Taf. 28 u. 29.

Verf. beschreibt zunächst *Copromonas major* n. sp., aus dem Darm von *Lacerta agilis*, die er auf Agar züchtete. Der Kern zeigt ein kompaktes Caryosom und in der Kernsaftzone einen Ring aus Chromatinkörnchen. Eine eigentliche Kernmembran ist nicht vorhanden. Bei Beginn der Teilung streckt sich das Caryosom und gibt einen Teil seines Chromatins an die Kernsaftzone ab. Das Außenchromatin fließt nach den Polen des Caryosoms ab und umgibt sie in Form wolkig aufgelockerter Kappen. Die Teilung des Caryosoms erfolgt mitotisch mit Centriolen, Spindelfasern und Äquatorial- bzw. Tochterplatten; nach der Trennung der Tochtercaryosome werden diese wieder vom Außenchromatin umflossen. Die alte Geißel wurde vor der Teilung »eingeschmolzen«; aus den Centriolen sprossen nun neue Geißeln hervor, wobei ein Körnchen vom Centriol bis an die Körperperipherie wandert und allmählich das Material zum Aufbau der Geißel zu liefern scheint; nach Fertigstellung der Geißel ist es verschwunden. Wenige Stadien der Copulation und eine Reifeteilung wurden beobachtet. Anormalerweise kommt manchmal bei sich teilenden Individuen eine Drehung der Kernteilungsfigur um 90° vor, so daß die Spindelachse der Körperachse parallel steht. Bei diesen Tieren bleibt dann die Zellteilung aus; auch die Nahrungsaufnahme scheint unmöglich zu werden.

Bei *Leptomonas jaculum* Léger aus dem Darm von *Nepa cinerea* hat Berliner hauptsächlich den Geißelapparat studiert. Aus dem kugeligen vor dem Hauptkern liegenden Blepharoplast entspringt der Rhizoplast, der meist stäbchenförmig und an der Körpergrenze zu einem Basalkörnchen verdickt ist, aus dem die eigentliche Geißel entspringt. Doch ist der Blepharoplast meist in Teilung, die hantelförmig aussieht, aber wahrscheinlich (vgl. oben Rosenbusch) eine schwer erkennbare Mitose vorstellt. Schon vor der Durchschnürung der Tochterblepharoplasten sproßt ein zweiter Rhizoplast hervor, so daß der Geißelapparat meist doppelt vorhanden ist, die von Patton (1908) und Werner (1908) für *Herpetomonas*-Arten angegebene Spaltung der Geißel kommt also hier nicht vor. An den Parasiten aus einigen *Nepa*-Exemplaren wurde Degeneration des Hauptkerns beobachtet, wobei das Caryosom mit dem Blepharoplast zu verschmelzen scheint, während das übrige Chromatin des Kerns im Plasma fein verteilt wird. Die Übertragung geschieht durch kleine Dauercysten, in denen Autogamie stattzufinden scheint.

Im Schlußteil bespricht Verf. die für die systematische Einteilung der Flagellaten zu beachtende Struktur von Kern und Bewegungsapparat und teilt die Erscheinungen folgendermaßen ein:

1) Primitivster Bau: Ein Kern, in dem trophisches und lokomotorisches Kernmaterial gleichmäßig gemischt ist; die Geißel entspringt aus dem Kern.

2) Nächsthöhere Form: Ein Kern, Caryosom mit hauptsächlich lokomotorischer Funktion, aus dem die Geißel entspringt; in der Kernsaftzone das trophische Chromatin.

3) Aus dem Caryosom, bzw. dem in ihm verborgenen Centriol, geht ein Basalkorn als Geißelursprung hervor, das mit dem Caryosom noch durch einen Rhizoplast in Verbindung steht.

4) Das Basalkorn wird unabhängig vom Kern; der Rhizoplast verschwindet.

5) *Binucleata*: Der Kerndualismus besteht nicht nur in der Scheidung von Caryosom und Außenchromatin, sondern der durch heteropole Teilung aus dem Hauptkern entstandene Blepharoplast, der selbst wieder aus lokomotorischem und trophischem Chromatin (Binnenkörper und Außenchromatin) besteht, gibt den Ursprung des Geißelapparates.

Bei Binucleaten, die die Ortsbewegung aufgegeben haben, tritt die Rückbildung des Blepharoplasten ein; *Haemoproteus* zeigt noch einen kleinen, mit dem Caryosom durch einen Faden verbundenen Blepharoplast. Auch *Leucocytozoon* besitzt noch einen Blepharoplast, Proteosoma in seltenen Fällen; bei Plasmodium ist er nach Hartmann wieder vom Hauptkern aufgenommen, scheint aber in seltenen Fällen aus ihm herauszutreten.

E. Neresheimer (Wien).

Baldrey, F. S. H., Versuche und Beobachtungen über die Entwicklung von *Trypanosoma lewisi* in der Rattenlaus *Haematopinus spinulosus*. in: Arch. f. Prot. Bd. 15. S. 326—332, 2. Textfig. 1909.

Bei der Nachprüfung der Befunde Prowazeks fand Verf. einige Copulationsstadien im Körper der Laus, wobei das Hinterende der männlichen Form in das Hinterende des Makrogameten eingelagert ist. In der Zygote verschmelzen die Hauptkerne und die Blepharoplasten; der Blepharoplast erscheint nach der Verschmelzung doppelt. Später rückt der doppelte Blepharoplast in den Kern, wo er neben dessen Caryosom deutlich zu sehen ist. Auf diesem Stadium hat die Zygote die Geißel völlig eingebüßt (Ookinet). Die Entstehung des neuen Blepharoplasten wurde nicht beobachtet, wohl aber seine Teilung, worauf sich aus ihm zwei Geißeln entwickeln. Hierauf folgt die Kern- und Zellteilung dieser »*Crithidia*-Formen« aus der Leibeshöhle der Laus.

E. Neresheimer (Wien).

Schaxel, J., Die Ovogenese von *Pelagia noctiluca* Pér. et Less. mit besonderer Berücksichtigung der Chromidien und Nucleolen. in: Zool. Anz. Bd. 35. S. 407—414. 3 Figuren. 1900.

Nach einem jungen Ovocytenstadium, in dem die Chromosomen einen Fadenknäuel bilden, der Kern außerdem einen nicht chromatischen Nucleolus enthält, und das Plasma frei von Chromatin ist, kondensiert sich das Chromatin im Centrum des Kerns. Dieser synaptische Vorgang steigert sich so sehr, daß Schaxel von einer Ansammlung zentraler Nucleolen redet. In der Folge strömt von diesen Chromatin zur Kernperipherie, durchtritt diese und sammelt sich an der Außenseite der Membran zu nucleolenähnlichen Kappen. Auf solche Weise wird das Plasma des Eies chromatisch

und damit die Dotterbildung eingeleitet. Die endgültige Dottermasse übertrifft aber bei weitem die Menge der Chromidien.

Dieser Begriff scheint dem Verf. jedoch nicht mehr zu taugen für seine Entdeckungen. Er möchte in diesen Fällen von »Kinetochromidien« gesprochen haben und den ganzen Vorgang, der von Anfang an zu den Fundamenten der Lehre vom Chromidialapparat gehört hat, nennt er die »Zentrifugie des Caryochromatins«. Ferner verspricht der Verf.: »Durch weitere Untersuchungen, die sich über den ganzen Stamm der Echinodermen bei Entwicklung der Geschlechtszellen, Furchung, Organbildung und -funktion verbreiten werden, hoffe ich das hier Angedeutete noch eingehender zu begründen«.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

Granata, Leop., Le divisioni degli spermatociti di „*Xylocopa violacea*“ L. in: Biologica. Vol. 2. Nr. 15 p. 1—12. 2 Tav. 1909.

Das Material zu der Untersuchung, die eine hübsche Bestätigung der von Meves über die Bienenspermatogenese angestellten ist, boten Puppen von *Xylocopa* aus dem botanischen Garten in Cagliari. Die Chromosomenzahl in den Spermatogonien beträgt 16, in den Follikelzellen ist sie ganz bedeutend größer (etwa 60). Schon Meves und Petrunkewitsch stellten diese merkwürdige Differenz fest. Während der Periode des Anwachsens der Spermiocyten treten längsgespaltene Fäden auf; Fig. 15, 18, 21 usw. würden sich gut eignen, die Längskonjugation zu »beweisen«. Diesmal stimmt das Exempel aber recht schlecht. Die Mitose der 1. Reifeteilung besitzt die unreduzierte Zahl der Chromosomen! Wie bei der Biene gelangt es nur zur Abschnürung eines kernlosen Plasmafragmentes. Auch die zahlreichen Centriolen an der Zellperipherie, von denen kleine Plasmaknospen ausgehen. fanden sich vorher, wie bei Meves, der im Einklang mit Granata zwei von diesen (die Hauptcentriolen) für die Reifeteilung in Anspruch nimmt. — Die Mitose geht unmittelbar in die zweite Reifeteilung über, die die 16 Chromosomen längsteilt, ohne eine Reduktion herbeizuführen. Der eine Tochterkern bekommt einen nur kleinen Bruchteil des Plasmas mit und verfällt der Degeneration. Der Fall gleicht also wie der der Biene sehr den Reifeteilungen der Eier, aus einer Spermatogonie entsteht ein Spermium. Man hat nicht darauf geachtet, daß interessanterweise hierbei die Größenverhältnisse, die aus der Wachstumsperiode resultieren, sich viel mehr denen des Eies nähern; daß hier der Plasmaleib relativ so viel größer ist, als sonst in Spermiocyten, scheint in unmittelbarem Zusammenhang mit dem abortiven Modus der Reifung zu stehen.

Aus Analogie mit *Apis* schließt Granata wohl mit Recht, daß auch bei *Xylocopa* die Männchen ihre Entstehung parthenogenetischen Eiern verdanken, die beide Richtungskörper ausgestoßen hatten, also von vorn herein die reduzierte Chromosomenzahl besitzen, und daß aus diesem Grunde eine erneute Reduktion in der Spermatogenese verhindert wird.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

Artom, Ces., Cromosomi ed eterocromosoma nelle cinesi spermatogenetiche di „*Stauronotus maroccanus*“ Thunb. in: Biologica. Vol. 2. Nr. 16. p. 1—24. 1 Tav. 1909.

Auch aus dieser Heuschreckenspermatogenese geht die Einheitlichkeit der Reifevorgänge der ganzen Gruppe hervor. Die Spermatocyten gehen eine polarorientierte

Anordnung der Chromosomenschleifen ein. ARTOM erkennt diese aber nicht als regelrechtes Bukettstadium, sondern schließt aus diesen Bildern nur auf eine parallele Konjugation. Eine solche darzutun, dürften aber doch wohl die drei Fig. 10, 11, 12 nie und nimmer genügen! Die erste Reifeteilung soll die Konjuganten trennen, die zweite teilt einwertige Chromosomen längs. — Das Verhalten des Heterochromosoms ist das übliche. Aus einigen Figuren läßt sich entnehmen, daß es während des Bukettstadiums einen Fortsatz nach dem orientierenden Pol sendet (Fig. 12, 14). Der Meinung ARTOMS, daß dasselbe in der zweiten Reifeteilung transversal, nicht longitudinal geteilt wird, kann ich nach meinen Erfahrungen nicht beistimmen.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

BOVERI, TH., Über Beziehungen des Chromatins zur Geschlechtsbestimmung. in: Sitzb. Phys. med. Ges. Würzburg. S. 1—10. 1909.

Die amerikanischen Untersuchungen über das accessorische Chromosom, die MORGANS und VON BAEHRS an Blattläusen sowie die BALTZERS an Echiniden werden vom Standpunkt der geschlechtsbestimmenden Wirkung des Heterochromosoms referiert. Ist in den beiden ersten Fällen die Differenz zweier Spermiensorten das Ausschlaggebende, so ist bei den Seeigeln die Bestimmung den Weibchen zugeteilt. Dieser Unterschied ist aber als ein nur untergeordneter zu betrachten. Für bedeutsamer hält BOVERI die Übereinstimmung der Echiniden und Insekten darin, daß in beiden Fällen das befruchtete Ei, das ein Weibchen liefert, mehr Chromatin besitzt, als das, welches Männchen den Ursprung gibt. Der Zustand, in dem der Chromatinbestand von Spermakern und Eikern der gleiche ist, stellt den ursprünglichen dar; bei Insekten hat dann von zwei homologen Chromosomen das männliche eine Schwächung erfahren, die sich bis zum völligen Schwinden steigern konnte, bei Seeigeln hat sich das weibliche stärker ausgebildet. Mit WILSON verwirft BOVERI die Annahme, daß in den Heterochromosomen und ihren Korrespondenten im andern Geschlecht spezifische Geschlechtstendenzen lokalisiert sind, sondern schließt sich der Vermutung an, daß lediglich eine verschiedene Aktivität derselben das Ausschlaggebende ist. Die Experimente, die ursprünglich sexuell indifferente Eier durch künstlich gesteigerte Ernährung zu Weibchen gebenden machten, würden dann gut zu den andern Fällen passen, in denen Eier mit stärkeren Assimilationschromosomen Weibchen erzeugen[1]).

P. Buchner (z. Z. Neapel).

GÉRARD, POL., Recherches sur la Spermatogenèse chez *Stenobothrus biguttulus* (Linn.). in: Arch. Biolog. Tome 24. p. 543—625. 3 Planches. 1909.

Im Laufe der Vermehrungsteilungen wird das Volumen der Spermatogonien bedeutend verkleinert. Die Menge des Chromatins und der Mitochondrien soll entsprechend abnehmen. In den großen »Urspermatogonien« findet sich auch tatsächlich, jedesmal einer Scheitelzelle mit noch reichlicherem Chromidium zugewendet, eine ansehn-

[1]) Inzwischen teilt BOVERI mit, daß die Annahme, daß auch bei Echiniden im weiblichen Geschlecht »wenn auch nur ein Minimum, mehr Chromatin vorhanden sei« aus den BALTZERschen Tabellen doch nicht zu entnehmen sei. »Die Frage muß einstweilen unentschieden bleiben«. (Arch. Zellf. Bd. 4. S. 137.)

liche Mitochondrienkappe, in den letzten Spermatogonien nur geringe Mengen. Hieraus und aus der Tatsache, daß in der Wachstumszone auch die Mitochondrien sich vermehren, nach den Reifeteilungen aber, auf die kein erneutes Zellwachstum folgt, an Masse nicht zunehmen, sondern parallel der Kernverkleinerung in den Spermatiden großenteils abgestoßen werden, entnimmt GÉRARD den Begriff der »Kernchromidiarelation«, die er für ein konstantes Phänomen hält. Daß die Vermehrungsteilungen Plasma und Kern in gleichem Maße verringern, widerspricht den bisherigen Angaben und auch den Bildern des Verf. (Fig. 3 und 16!), aus denen vielmehr ersichtlich ist, daß der Kern relativ groß bleibt. Die Mitochondrien stammen zwar nicht aus dem Kern, stehen aber doch in einem funktionellen Abhängigkeitsverhältnis von diesem. Ihre Vererbungsfähigkeit (MEVES) wird mit Recht abgelehnt. Was über ihr Verhalten bei der Mitose gesagt wird, entspricht völlig der Darstellung von GIGLIO-TOS und GRANATA (1908) bezüglich eines andern Orthopterons (*Pamphagus*), die dem Verf. jedoch entging (Biologica vol. II). In der Spermatide imprägnieren sie den Spindelrestkörper, strecken sich mit ihm in die Länge, lösen sich am Ende in einzelne Bläschen. die dem Achsenfaden ansitzen, und schließlich eine zarte Hülle um ihn ausscheiden.

Was nun die Angaben über die Kernverhältnisse betrifft, so sei vorausgeschickt, daß die Bilder bezüglich der Autosome genau die gleichen sind, wie die, die die Arbeiten von McCLUNG, OTTE, DAVIS, BUCHNER usw. illustrieren. Der Modus der Reduktion verläuft bei den Heuschrecken, Blattiden usw. sicher gleich und nur eine der verschiedenen Interpretationen kann die richtige sein. Dem Verf. ist es gelungen, eine zu finden, die teilweise völlig neu ist. Nach der letzten Spermatogonienmitose wird ein Netz gebildet, an dem allein das Heterochromosom nicht teilnimmt, obwohl es Anastomosen mit ihm aufweisen kann. Verf. unterscheidet an dem Netz Hauptzüge und Seitenzüge. Von letzteren rücken nun die Chromiolen — zu einer Zeit, wo keine Chromosomengrenzen in dem Netz zu finden sind! — auf die Hauptzüge zu und legen sich den Chromiolen dieser gegenüber. Dieser Prozeß beginnt an dem Pol, an dem stets das accessorische Chromosom liegt und setzt sich von dort allmählich durch den ganzen Kernraum fort. Sind dann einzelne individualisierte längsgespaltete Schleifen im Kern, so nennt sie GÉRARD — obwohl er selbst zugibt, daß in den Stadien, in die er ihre Entstehung verlegt, keine Chromosomen zu erkennen sind — durch Längskonjugation entstandene Doppelchromosomen. Eine Tatsache macht jedoch diese Darstellung völlig illusorisch. Die Heuschrecken haben ein leptotänes Bukettstadium, in dem es bereits keine chromatischen Anastomosen mehr gibt und jede Schleife wohl individualisiert ist, und trotzdem entsteht ein Längsspalt. GÉRARD sagt zwar, daß sich bei seiner Species kein Bukettstadium finde, bildet es aber wiederholt ab, besonders schön in der Ansicht von oben, wo die einzelnen Schleifen wie ein Stern auf einander zu laufen (die Textfig. *E* und pl. 19, Fig. 31); ja auch das gleiche spezifische Verhalten des accessorischen Chromosoms, das nun von WASSILIEFF, DAVIS, MORSE und mir beschrieben wurde, ist daraus abzulesen. Es bekommt ein spitzauslaufendes Ende und stellt sich mit diesem nach dem Pol, nach dem auch die Chromosomenschleifen streben. GÉRARD hat diesen Zustand sicher nicht richtig aufgefaßt, wenn er daraus eine merkwürdige Kontinuität des Heterochromosoms und der Autosomen erschließt. — Es folgen die üblichen Ringe und 8-Figuren und die typischen Bilder der 1. Reifeteilung. Hier soll nach der Chromosomengrenze getrennt werden, in der zweiten Teilung nach dem Längsspalt. Um die verschiedene Stellung der Chromosomen in der 1. Reifeteilung mit seiner Ansicht von der Konjugation in Einklang zu bringen, muß GÉRARD zu der Hypothese McCLUNGS greifen, nach der ein Chromosom, dessen Längsachse senkrecht zu den

Spindelfasern steht, vor dem Auseinanderrücken zunächst so umgeformt wird, daß beide parallel laufen. Ich habe in meiner Untersuchung der Spermatogenese der Heuschrecken gezeigt, wie nur die Annahme einer Vereinigung der Chromosomen mit den Enden und ein genaues Verfolgen der verschiedenen Modi der Tetradenbildung die verschiedene Stellung der Chromosomen in der Äquatorialplatte zwanglos erklärt und verweise hier auf dieselbe.

Bezüglich des Heterochromosoms hat die Arbeit nichts Neues gebracht, der Verf. enthält sich deshalb auch einer Auseinandersetzung über dessen mögliche Bedeutung.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

Korotneff, A., Mitochondrien, Chondriomiten und Faserepithel der Tricladen. in: Arch. mikr. Anat. Bd. 74. S. 1000—1016. 2 Taf. 1909.

Korotneff berichtet über die Genese der Muskelfibrillen einiger Trikladen. Er sieht, wie heute auch einige andere Autoren, ihren Ausgangspunkt in Mitochondrien. Die Form und das Verhalten dieser Mitochondrien schildert er aber sehr merkwürdig. Auf der ersten Stufe liegen sie in dem Myoblasten in Gruppen vereinigt, die entweder von einem großen Mitochondrienbrocken fingerförmig ausstrahlen, oder in geschlossenen Haufen beisammen liegen, umgeben von einer zarten Membran. Später ziehen sie sich zu spindelförmigen Körpern aus, »die sich zusammenballen und oft wie von einer aus denselben Körperchen bestehenden Scheide umgeben werden«; ja, diese Mitochondriencysten können sich völlig von der Mutterzelle abschnüren(!), um vor der Bildung der Fibrillen aufs neue mit Myoblasten zu verschmelzen, deren Plasma mit ihren Inhaltskörpern zu durchsetzen und den Anstoß zur Fibrillenentstehung zu geben. Sie legen sich, nachdem sich vorher Vacuolen um sie gebildet haben, längs der blassen Fibrille und bekommen eine intrafibrilläre Anordnung. Die Fibrille entsteht also aus einem blassen, intracellulär entstandenen Teil und einem »stark lichtbrechenden, nach ihrem Ursprung aus besonderen Anhäufungen (Depots) herkommenden extracellulären«.

Diese Beobachtungen bedürfen wohl kaum einer Kritik. Von Protozoen infiziertes Material und Fixationsniederschläge scheinen die Ursachen gewesen zu sein, die den Verfasser zu solchen Behauptungen geführt haben, die so ganz dem Wesen der Chromidien entgegenlaufen. Was auf den beigegebenen Figuren alles unter den Hut der Mitochondrien und Chondriokonten gebracht wird, ist unglaublich.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

Schleip, W., Die Reifung des Eies von *Rhodites rosae* L. und einige allgemeine Bemerkungen über die Chromosomen bei parthenogenetischer Fortpflanzung. in: Zool. Anz. Bd. 35. S. 203—213. 1909.

Henking hatte bei *Rhodites* die Abschnürung zweier Richtungskörper beschrieben, durch die die Chromosomenzahl reduziert wird. Eine Autoregulation erhöht sie darauf wieder auf die Normalzahl. Als solche fand Henking 9—10. Schleip meint, daß es auch 10—12 sein könnten. Er bestätigt die beiden Reifeteilungen, findet aber, daß beide Äquationsteilungen sind, daß also keine Zahlenreduktion eintritt. Entsprechend liegen in Furchungskernen vor der Teilung 10—12 Chromosomen. Zur Zeit der Blastodermbildung aber erscheinen indessen nur 6 Chromosomen, die wohl als doppelwertige Sammelchromosomen anzusehen sind. Ihre Zahl hat mit der Parthenogenese

nichts zu tun, sondern beruht auf einer sekundären Erscheinung. Wie sich die Keimbahnzellen hier verhalten, bleibt leider unbekannt.

Die kritische Betrachtung der einschlägigen Literatur bringt den Verf. zu den folgenden Schlüssen: »Obligatorisch parthenogenetische Eier, d. h. solche, die nicht befruchtet werden können, verhalten sich bei ihren Reifeteilungen verschieden; stets aber unterbleibt die Reduktion der Chromosomenzahl. Fakultativ parthenogenetische Eier, d. h. solche, die sich befruchtet oder unbefruchtet entwickeln können, erfahren stets eine Zahlenreduktion. Sie entwickeln sich mit der halben Chromosomenzahl zu Männchen, in deren Spermatogenese dann die Reduktion der Chromosomen ausfällt. Bei jeder Form der Parthenogenese ist nicht nur eine fortdauernde Verminderung der Chromosomenzahl schlechtweg, sondern auch der Zahl der verschiedenen Chromatineinheiten verhütet, falls eine Verschiedenheit zwischen denselben besteht«.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

Brunelli, Gust., La spermatogenesi del »*Gryllus desertus*« Pall. (Divisioni spermatogoniali e maturazione). in: R. Acad. dei Lincei Roma. Ser. 5*a*. Vol. 7. p. 621—653. 2 Tav. 1909.

Die ruhenden Spermatogonien weisen bei *Gryllus* die gleiche Karyomeritenbildung auf, wie sie für andere Orthopteren Sutton, Otte, und der Ref. beschrieben haben. Das große Heterochromosom ist dabei deutlich zu erkennen, da es bei der Kondensation der Chromosomen zur Mitose zurückbleibt, und besonders schön den vorbereitenden Längsspalt beobachten läßt. Diese Lähmung macht sich in der Folge an dem schon oft beobachteten Nachschleppen in der Anaphase weiterhin bemerkbar. In jungen Spermatocyten findet sich neben dem kompakt bleibenden accessorischen Chromosom ein Plastinnucleolus. Die Autosomen erscheinen — nach einem Zustand, der an die »Pseudotetraden« Wassilieffs bei *Blatta* erinnert — frühzeitig längsgespalten. Wenn Brunelli das Vorhandensein eines Bukettstadiums bei *Gryllus* verneint, so muß ich dies, wie ähnlich schon öfters in meiner spermatogenetischen und ovogenetischen Untersuchung der Orthopteren, bestreiten. Einmal habe ich diesen Zustand der Spermatocyte bei *Gr. campestris* selbst beobachtet, und dann bildet der Verf. (in seiner Fig. 16) selbst einen solchen ab. Auch bezüglich des Heterochromosoms muß ich dieses Bild anders auffassen. Brunelli meint, daß die Abströmungsfiguren des accessorischen Chromosoms, die Wassilieff und ich beschrieben haben, von Duesberg mit Recht als Täuschungen abgetan werden (vgl. hierzu Goldschmidt, das Skelett der Muskelzelle von *Ascaris*. Arch. f. Zellf. 1909; S. 110). Ich bin dagegen überzeugt, daß auch im Hoden von *Gr. desertus* das accessorische Chromosom sich ebenso verhält. Fig. 16 stellt hierzu eine allerdings wenig günstige Illustration dar. Ja, das Vorhandensein eines Plasmosoms in den Ovocyten, das sich in späteren Stadien an das Monosom anlegt, ist so entsprechend den Verhältnissen bei *Blatta* und *Oedipoda*, daß es wohl möglich ist, daß es auch hier den Rest eines ins Plasma geflossenen Teilstückes des accessorischen Chromosoms darstellt.

Sehr lehrreich sind die Bilder, die das Verhalten desselben zwischen den beiden Reifeteilungen wiedergeben. Der ungleich verteilte Körper löst sich in ein völlig isoliertes rundes Kernbläschen auf, das, wie es bei der Auflösung nachschleppte, auch den Kondensierungsprozeß erst vollendet, wenn die zweite Reifeteilung bereits entstanden ist.

Bezüglich des Reifemodus kommt BRUNELLI zu dem Standpunkt MONTGOMERYS und des Referenten; die erste Teilung ist eine transversale und trennt die vorher end to end konjugierten Chromosomen, die zweite ist eine Äquationsteilung; bezüglich der Bedeutung des Heterochromosoms möchte er die Geschlechtsbestimmungstheorie beibehalten wissen, aus den Beziehungen zu Plasmosomen aber auf eine Rolle im Zellmetabolismus schließen, die der der Nucleolen nahe steht.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

KLEINERT, MAX, Die Spermatogenese von *Helix* (Trachea) *nemoralis* und *hortensis*. in: Jen. Zeitschr. f. Naturw. Bd. 45. S. 445—498. 3 Taf. 22 Textfig. 1909.

Es liegt nun die ausführlichere Schilderung der Verhältnisse der *Helix*-Spermatogenese vor, die ZIEGLER schon einmal berührt hat (Die Erklärung der Mendelschen Regel. Zool. Anz. 1908). Sowohl *Helix nemoralis* als auch *hortensis*, nicht aber *pomatia* haben unter den 48 Chromosomen der Spermatogonien zwei ganz besonders große hakenförmige, die von den übrigen ungefähr gleich großen rundlichen sich stark abheben. Im ruhenden Kern lösen sie sich mit den andern auf, bei der Mitose erinnern sie sofort an Heterochromosomen wie etwa bei *Gryllus*, besonders infolge ihres verlangsamten Teilungstempos. Vor der Tetradenbildung wird ein Bukettstadium zwar abgebildet, aber nicht beschrieben. Die großen Chromosomen scheinen sich hierbei normal zu verhalten, soweit aus der unvollständigen Darstellung dieser Periode zu entnehmen ist. Daß während dieser Stadien kein Längsspalt auftritt, erscheint mir sehr unwahrscheinlich, besonders nach den Bildern, die BOLLES LEE (1897) von *Helix pomatia* gibt; denn was jener Autor als Teilungsstadien der Spermatogonien beschrieben hat, gehört in Wirklichkeit zu den schönsten Bildern von leptotänen und pachytänen Bukettstadien! Die beiden großen Chromosomen treten zu einer Tetrade zusammen. Die erste Reifeteilung ist wahrscheinlich eine Äquationsteilung, die zweite reduziert.

KLEINERT sieht nach dem Vorgang seines Lehrers E. ZIEGLER in dem Vorkommen dieser ungewöhnlichen Chromosomen bei einem nachgewiesenermaßen mendelnden Tier (Bänder!) einen Beweis für die Erklärungsmöglichkeit der MENDELschen Regeln mit Hilfe morphologischer Chromosomendifferenzen. Ich möchte aber bei diesen Chromosomen auch an die Heterochromosomen gedacht wissen, an die sie, wie erwähnt, sofort erinnern. Als ich das accessorische Chromosom bei *Oedipoda* als einen ursprünglich bivalenten Körper erklärte (1909) und die Eliminierung des einen derselben beschrieb, die allein eine ungleiche Verteilung erklären kann, habe ich Zustände wie diesen bei *Helix* als ein primitiveres Verhältnis, aus dem sich der Fall *Oedipoda* abgeleitet hat, postuliert. Da hier aus dem Ei Hermaphroditen entstehen, würde sich die Unterdrückung der teilweisen Elimination leicht erklären, ohne daß man auf dem Standpunkt der Geschlechtsbestimmungstheorie zu stehen braucht.

»Das Idiozom, bzw. der Nebenkern der Autoren ... enthält im Zentrum ein Centrosom, in der Rindenschicht aber eine variable Anzahl von Stäbchen, die zur Zahl der Chromosomen in keinem bestimmten Verhältnis stehen«, wie es PLATNER beschreibt. »Die Idiozomstäbchen lösen sich ... häufig in die Mitochondrien auf, die, ohne irgend eine Rolle gespielt zu haben, früher oder später verschwinden«. »Der echte Nebenkern in den Spermatiden entsteht aus dem äquatorialen Teil der Spindel bei gleichzeitiger Bildung einer Spindelplatte«.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

Silvestri, F., Contribuzioni alla conoscenza degli Imenotteri parassiti. I. Biologia del *Litomastix truncatellus* (Dalm.). in: Annali R. Scuola Sup. Agricoltura Portici. Vol. 6. p. 1—51. 5 Tav. 1906.

—— Contribuzioni alla conoscenza biologica degli Imenotteri parassiti. II. Sviluppo dell' *Ageniapsis fuscicollis* (Dalm.). III. Sviluppo dell' *Encyrtus aphidivorus* Mayr. IV. Sviluppo dell' *Oophthora semblidis* Aur. in: Boll. Labor. zool. gen. e agrario. R. Sc. Sup. Agricolt. Portici. Vol. 3. p. 29—87. 2 Tav. 1908.

Die beiden Arbeiten seien hier im Zusammenhang besprochen, obwohl besonders die erste schon etwas älteren Datums ist, da sie einerseits eine Reihe von Beobachtungen enthalten, die für die Zelle Bedeutung haben, anderseits aber infolge des abgelegenen Ortes, an dem sie publiziert sind, wenig bekannt und schwer zugänglich sind.

I. Die Eier von *Litomastix* werden in die von *Plusia* abgelegt. Im Ovar hat das noch nicht ausgewachsene Ei ein großes Keimbläschen und in diesem einen Nucleolus. Das flaschenförmige reife Ei hat an der Stelle des Halses zwei chromatische Stäbe, die das Chromatin der Reifeteilungen enthalten und am Boden des Kolbens ein großes rundes, chromophiles Gebilde. Es soll den Nucleolus des aufgelösten Keimbläschens darstellen, eine Ableitung, die nicht bewiesen und aus manchen Gründen sogar etwas unwahrscheinlich erscheint. Wir nennen den Körper, der in der Entwicklung einer Reihe von Arten wiederkehrt und eine bedeutende Rolle spielt, aber doch, der Einfachheit halber mit dem Verf. Nucleolus. Die Richtungskörperbildung bietet nichts Besonderes, ebensowenig die Verschmelzung des männlichen und weiblichen Vorkerns. Bei der ersten Furchung, die nur einen unteren Teil des Eies für die beiden Tochterzellen in Anspruch nimmt, gelangt der Nucleolus in nur eine Zelle; im Vierzellenstadium besitzt ihn ebenfalls nur eine Zelle, in der er nun körnig zu zerfallen beginnt. Beim Übergang in das Achtzellenstadium wirkt diese Masse bereits hemmend auf das Tempo der Teilung ihrer Zelle, eine Erscheinung, die sich in den beiden Zellen, die nun Anteil an ihr nehmen, noch bedeutend steigert. Von nun an enthalten alle Nachkommen Granula im Plasma, Silvestri hat dies jedoch nicht weiter verfolgt. Eingehender schildert er die gleichzeitig sich abspielenden merkwürdigen Vorgänge an den Richtungskernen. Diese lagen in einem großen, von den embryonalen Zellen freigelassenen Plasmaabschnitt und verschmolzen zu einem Kern, der nun eine Reihe von Teilungen durchmacht. Vom Embryo ist diese Wucherung stets leicht zu unterscheiden, da sie ein Syncytium darstellt, das schließlich fast nur aus Kernen besteht, von beiden Seiten den Embryo angreift und völlig einhüllt. In diesem tritt nun eine Teilung des Keimgewebes auf. Ein vorderer Teil enthält große Kerne und dunkles Plasma (die beiden Tatsachen erlauben den Rückschluß, daß dieser von den Zellen mit Nucleolarsubstanz und gehemmter Teilungsenergie stammt), ein hinterer kleinere Zellen. Beide Teile trennen sich allmählich; der vordere zerfällt in der Folge in eine Reihe von Zellnestern, die endlich pädogenetischen Geschlechtstieren den Ursprung geben; der hintere liefert eine einzige, völlig geschlechtslose Larve ohne Gefäßsystem, respiratorisches System, malpighische Gefäße, ohne Geschlechtsapparat. Sie entwickeln sich nicht weiter und scheinen den Zweck zu erfüllen, den geschlechtlichen Larven den Weg durch den Wirt zu erleichtern.

Die weiterhin zu referierenden Ergebnisse des Verf. liefern den Nachweis, daß der gleiche Nucleolus bei Verwandten die Bedeutung hat, die Keimbahn zu bestimmen. Er entspricht also den polaren Granula so vieler Insekteneier, die nur in die »Polzellen«

d. h. in die Urgeschlechtszellen eingehen; und es bietet sich hier in der Natur das hübsche Experiment, das jüngst HEGNER anstellte (Biol. Bull. 1908), wenn er diesen Teil der Chrysomelideneier entfernte und so asexuelle Embryonen erzielte. —

II. Bei *Ageniapsis* haben wir recht ähnliche Verhältnisse. Auch hier gelangt der Nucleolus bei den ersten Teilungsschritten nur in eine Zelle, die durch seine Anwesenheit im Teilungstempo gehemmt wird; auch hier löst er sich in Granulationen auf. Aber die Polkörper verhalten sich anders. Sie quellen zu großen Kernen auf, die wohl auch gelegentlich noch fragmentiert werden, dann aber ihre Membranen lösen und mit ihren granulierten chromatischen Zerfallsprodukten den großen, wiederum zur Embryonalentwicklung nicht benutzten Teil des Eiplasmas erfüllen (Paranucleus). Dieses umgibt als Trophamnios (MARCHAL) den Embryo, zerschnürt ihn später zu einem Polyembryo, der eine Reihe, diesmal durchweg geschlechtlicher Tiere erzeugt. Im hohen Grade merkwürdig ist, daß hierbei die Derivate der Richtungskörperkerne noch in beträchtlichem Maße die Fähigkeit der Substanzvermehrung besitzen.

III. Bedeutsame Variationen begegnen uns bei *Encyrtus*, dessen Ei wie das von *Litomastix* und *Ageniaspis* gebaut ist. Reifeteilungen und Befruchtung verlaufen wie bei diesen. Die Polkörperchen gehen aber zugrund und die Furchungskerne grenzen, wie gewöhnlich bei Insekten, zunächst keine Plasmapartien ab. In bereits vielkernigen Embryonen liegt der große dunkle Nucleolus noch unberührt an einem Eipol. Wenn das Blastem gebildet wird, gelangt er auch jetzt nur in zwei, vier usw. Zellen, die durch Lage und Plasmaeinschlüsse, sowie Stillstand der Mitosen sich von nun an von den übrigen Zellen leicht unterscheiden und bis zur Bildung der Geschlechtsdrüsen zu verfolgen sind. Bei dieser Form fehlt eine Pädogenese und es scheint dem Ref., daß dies in unmittelbarem Zusammenhang mit der dort frühen, hier späteren Prägung des Keimmaterials zusammenhängt. — Der vierte Fall (*Oophthora*) unterscheidet sich kaum von dem eben besprochenen. Hier macht es der Eikern, der nicht größer ist als der »Nucleolus«, ziemlich unmöglich, daß wir letzteren so nennen. Die Frage der Entstehung ist hier noch ebenso unklar, wie in den so häufigen granulierten Kappen der Insekteneier, die nach den vorliegenden Untersuchungen identisch sind. Die Möglichkeit, daß beide Gebilde Derivate fremder Zellen (»Nährzellen«) sind, scheint mir nach meinen Befunden über die Entstehung eines die Keimbahn bei *Sagitta* bestimmenden analogen runden, chromophilen Körpers aus einer »degenerierenden« Zelle nicht abzuweisen zu sein, besonders nachdem SILVESTRI mir mündlich mitteilte, daß mit den Eiern Nährzellen in Verbindung stehen, die er nicht abgebildet hat. (Anat. Anz. 1909, vgl. auch Referat über ELPATIEWSKY in diesem Heft.)

P. Buchner (z. Z. Neapel).

ELPATIEWSKY, W., Die Urgeschlechtszellenbildung von *Sagitta*. in: Anat. Anz. Bd. 35. S. 226—239. 19 Abbild. 1909.

Der Verf. hat die erste Entwicklungsgeschichte von *Sagitta* untersucht. Er findet, daß nach Ablauf der Eireife ein Körper im Plasma auftritt, der, am vegetativen Pol gelegen, im Laufe der 5 ersten Teilungsschritte stets nur eine Zelle begleitet. Die letzte derselben trägt besonderen Charakter. Bisher war der »besondere Körper« ohne Beziehungen zum Teilungsmechanismus einzugehen, scheinbar passiv verteilt worden. Nun rückt er in den unmittelbaren Bereich eines der Centrosomen, umgibt dieses im Halbkreis und wirkt hemmend auf seine Teilungsenergie, sodaß die Zelle des 32 Zellenstadiums, die den Körper besitzt, bedeutend kleiner wird, als die Schwesterzelle. Die

Teilungsverspätung, die die besonders beladene Zelle schon bisher charakterisierte, steigert sich in der Folge noch; es kommt zu einem Embryo mit 62 Ruhekernen und einer Mitose. In dieser wird der Körper, der inzwischen unregelmäßig geworden und zerfallen ist, auf beide Tochterzellen, aber ungleich, verteilt. Die einzelnen Brocken desselben werden hierauf blaß und verschwinden; bei der nächsten Teilung, aus der die vier Urgeschlechtszellen resultieren, finden sich nur noch selten Reste. Die Gastrulation hat den Zellkomplex auf den Boden der Gastralhöhle verlagert. Die vier Urgeschlechtszellen sollen von zwei etwas verschieden großen Kernen abstammen, die beiden Mitosen, die ihnen den Ursprung geben, sind nicht synchrom. Auch die vier Tochterkerne sind zu je zweien anfangs von verschiedener Größe.

Nach den alten Angaben O. Hertwigs über die Entstehung von Hoden und Ovar sind diese Unterschiede jedoch belanglos. Denn Drüsen mit gleichen Eigenschaften würden dann aus ungleichen Zellen stammen. Dem zu entgehen, nimmt Elpatiewsky eine Umordnung der vier Elemente an, derart, daß die Zellen mit kleineren Kernen nach rückwärts verlagert werden und Hoden bilden, die mit größeren nach vorn und die Entstehung der Ovarien bedingen.

Der Referent hat sich mit der Untersuchung der gleichen Fragen beschäftigt. Es sei auf die vorläufige Mitteilung, in der er Stellung nimmt zu diesen Resultaten, verwiesen[1]). Hier sei nur erwähnt, daß nach unseren Erfahrungen der »besondere Körper« nicht erst im ausgetretenen Ei entsteht, sondern auf frühen Stadien der Eibildung schon sich findet und zwar ursprünglich als eine ins Ei verlagerte und später degenerierende Epithel zelle, ferner daß uns eine Umlagerung der vier Urgeschlechtszellen fraglich erscheint, und wir anderseits ein Weiterfortbestehen der Teile der degenerierten Zelle für sehr wahrscheinlich halten. Ja es scheint, daß sie im Laufe der Ovogenese noch eine bedeutsame, den Nucleolarapparat ersetzende Rolle spielen können.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

Gutherz, S., Weiteres zur Geschichte des Heterochromosoms von *Gryllus domesticus* L. in: Sitzber. Ges. Naturf. Freunde Berlin. S. 410—418. 1909.

Die Archispermiocyten kurz ausgeschlüpfter und etwa vier Wochen alter Gryllenlarven lassen keine Heterochromosomen entdecken. Die typischen hufeisenförmigen Bilder desselben in Metaphase und Anaphase der Spermatogonienteilungen des gleichen Tieres fehlen völlig. Auch im Ruhekern ist kein Analogon für das autonome Verhalten des Heterochromosoms an der Peripherie der Spermatogonienkerne zu finden. Eine Zählung gelang leider nicht, ebensowenig weiß der Verf. etwas über die Art des ersten Auftretens des Chromosoms, beziehungsweise seiner aberranten Form und Teilungsgeschwindigkeit zu berichten. Daß Heterochromosome sich wohl durch die einzelnen Spermatogonienteilungen verfolgen lassen, in den Archispermiocyten aber kaum mehr unterscheidbar sind, hatte schon Sutton am *Melanoplus* festzustellen Gelegenheit gehabt. Wir werden durch solche Angaben gezwungen, in den besonderen funktionellen Ansprüchen der raschen Vermehrungsteilungen den Anstoß zu den atypischen Erscheinungen der Heterochromosomen zu sehen und aus dem gleichen Grunde ist vielleicht

[1]) P. Buchner, Keimbahn und Ovogenese von *Sagitta*. Anat. Anz. Bd. 35. 1910.

doch von dem Studium der Keimbahn dieser Körper weniger zu erwarten, als man hofft.

Den Einwurf STRASSBURGERS (1909), diese Gebilde möchten nucleolärer Natur sein, weist GUTHERZ zurück.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

BÍLEK, FR., Über die fibrillären Strukturen in den Muskel- und Darmzellen der Ascariden. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 93. S. 625—667. 2 Taf. 1909.

VEYDOVSKY hat schon 1907 die Strukturen, die GOLDSCHMIDT in den Muskel- und Darmzellen von *Ascaris* als Chromidialapparat beschrieben, für »infolge der gewaltsamen Einwirkung der angewandten Versuchsreagenzien stark verletzte und zerrissene Fäden des normalen fädigen Gerüstapparates« erklärt. Durch seinen Schüler BÍLEK hat er nun diese seine Ansicht weiter bestätigen lassen; auch dieser findet in den betreffenden Zellen stets ein sehr schön ausgebildetes Stützsystem vor, das den Kern wie ein Körbchen umgebend von diesem nach allen Seiten an die Peripherie ausstrahlt. Daß dessen Fibrillen auch durch die Subcuticula treten, wie es GOLDSCHMIDT angab, wird ebenfalls bestritten, vor allem aber daran festgehalten, daß eine weitere Struktur nie zu beobachten ist. Nur wenn das System zerrissen war, entstanden Bilder, die es BÍLEK verständlich machen, wie GOLDSCHMIDT hier die chromidialen Strukturen und Anzeigen für ihren Austritt aus dem Kern finden konnte. Dieser hat bereits selbst auf diese — auf den ersten Blick — schwerwiegenden Einwürfe erwidert. Der Wunsch BÍLEKS und seines Lehrers, GOLDSCHMIDT möge doch gleichzeitig Stützapparat und Chromidialapparat in seinen Zeichnungen wiedergeben, ist hierbei erfüllt worden und damit deutlich genug dargetan, daß es sich um völlig heterogen strukturierte Gebilde handelt, die neben einander in der Zelle existieren.

P. Buchner (z. Z. Neapel).

MEVES, FR. Über Strukturen in den Zellen des embryonalen Stützgewebes sowie über die Entstehung der Bindegewebsfibrillen, insbesondere derjenigen der Sehne. in: Arch. mikr. Anat. Bd. LXXI. S. 149—208. 2 Taf. 1910.

MEVES führt seine 1908 bereits mitgeteilten Befunde über das allgemeine Vorkommen von Chondriokonten und Mitochondrien in den Embryonalzellen des Hünchens weiter aus (vergl. Ref. Bd. II S. 650, 51). Schon damals sprach er die Überzeugung aus, daß in diesen Strukturen die Anlagen für Myofibrillen, Neurofibrillen, Neurogliafasern und Bindegewebsfasern zu sehen seien und die Vermutung, daß sie auch die Grundlage für allerlei chemische Erzeugnisse des Stoffwechsels bilden (Secret, Fett, Pigment, Dotter). Für die Muskelfasern hat sein Schüler DUESBERG dies inzwischen weiter ausgeführt, für die Bindegewebszellen tut es MEVES selbst in der vorliegenden Untersuchung. Aus allen Zellen des embryonalen Stützgewebes, aus Bindegewebszellen, Knorpelzellen, Osteoblasten und Knochenzellen bildet er die fast stets fädigen, selten körnigen Strukturen des Plasmas ab, wie sie teilweise schon von einer Reihe von Vorgängern — wenn auch nicht so vorzüglich dargestellt — beobachtet wurden. Gelegentlich sammeln sie sich um die Centrotheca in dichten Mengen, ja stellen sich in regelmäßige Radien zu ihr ein; ihr Verhalten bei der Mitose ist nicht stets so wahl-

los, wie es Meves zuerst darstellte, sondern es fanden sich nun auch Bilder, die denen der Verteilung der Mitochondrien in Samenzellen gleichen (Bildung eines Mantels um die Verbindungsfasern der Anaphase und endliche Imprägnation derselben).

Auch in der Sehne des sechstägigen Embryos lassen sich die mit Eisenhämatoxylin geschwärzten Chondriokonten der dichtgefügten, länglichen Zellen nachweisen. Sie rücken in der Folge an die Peripherie der Zelle und bekommen schließlich sogar eine extrazelluläre Lage. Plötzlich finden sich nun unter ihnen Fibrillen, die sich bei einer Nachfärbung der Eisenhämatoxylinpräparate mit Safranin rot färben und deren Länge den Bereich einer Zelle weit überschreitet. Während sie sich von den zahlreichen Bildungszellen, zu denen je eine gehört, völlig lösen und frei zwischen diesen liegen, wachsen sie noch selbständig bedeutend an Länge und Dicke. Die ganze weitere Massenvermehrung der collagenen Substanz späterer Stadien beruht ebenso allein auf der formativen Tätigkeit der Fibrille, es rücken daher keine weiteren Chondriokonten mehr an die Zelloberfläche.

Obwohl, wie ersichtlich, in dieser Darstellung sich eine Lücke findet, die die Frage nach der Entstehung der kontinuierlichen Fibrille aus den Bruchstücken der Chondriokonten betrifft und das sprunghafte Wechseln des tinktorellen Verhaltens, zweifelt Meves nicht an einem unmittelbaren Zusammenhang beider Strukturen und nimmt an, daß diese Verschmelzung der Chondriokonten auf einem Stadium vor sich geht, das eine färberische Darstellung nicht gestattet und während dem sich auch der Chemismus der Faser derart ändert, daß die Farbenreaktion in der nächsten Erscheinungsform nicht mehr die gleiche ist.

Es folgen weiter mehr als 35 Seiten kritischer Betrachtungen über die Literatur, die über die Entstehung der Bindegewebsfibrillen existiert. Auf sie kann hier nicht näher eingegangen werden. Meves lehnt jeden genetischen Zusammenhang von Mitochondrien und Kernsubstanz auf das entschiedenste ab. Auch den apparato reticolare Golgis hält er nicht für identisch mit diesen. Nichtsdestoweniger können auch Anhänger der Lehre vom Chromidialapparat lebhaft funktionierender Zellen — um solche handelt es sich auch hier stets — die Mevesschen Forschungen über die histologische Differenzierung der embryonalen Zelle als eine Erweiterung ihrer Vorstellungen begrüßen.

P. Buchner (München).

Lams, Hon. Les globules polaires de l'œuf d'Arion empiricorum (Fér.). In: Arch. zool. expér. et génér. T. I (5). N. et R. Nr. 1. p. I—IX. 1909.

Lams beschreibt die normale Eireifung von *Arion* in kurzen Zügen, ohne eine Besonderheit dabei mitteilen zu können. Nicht ohne Interesse sind dagegen die Angaben über nicht seltene Anomalien. Unabhängig von den Richtungskörpern kann das Ei ziemlich große, kernlose Partien abschnüren; auch einer der beiden Richtungskörper selbst ist gelegentlich von ganz bedeutendem Umfang, meist der erste, so daß man von einer Ovocytenteilung reden könnte, deren Produkte je einen Richtungskörper abschnüren, gelegentlich aber auch der zweite. Sowohl kernlose »Pseudorichtungskörper« als auch die Riesenrichtungskörper können befruchtet werden und eine gelegentliche Weiterentwicklung ist nicht ganz ausgeschlossen. Lams vermehrt so die an ähnlichen Fällen von Atavismus der Richtungskörperbildung schon ziemlich reiche Literatur um einige lehrreiche Fälle.

P. Buchner (München).

Lams, Hon. Recherches concernant le dimorphisme des éléments séminaux chez le *Murex*. in: Ann. Soc. Méd. Gand. T. LXXXIX. p. 227. (Sep. p. 1—13). 1910.

In den Spermatogonien ließ sich noch kein Hinweis auf den Dimorphismus der Spermien finden. Die Spermatocyten 1. Ord., die in der Folge die aberranten, wurmförmigen Spermatozoiden liefern, wachsen bis zu einem Volumen, das mindestens doppelt so groß ist, als das der entsprechenden normalen Stadien. Bei der ersten Teilung ist die Trennung der Tochterzellen oft so gehemmt, daß beide Kerne in einem gemeinsamen Plasmaleib liegen. Durchweg kommt es in ihnen zu Karyomeritenbildung (etwa 6). Wenn die Spermatocyten 2. Ord. sich teilen, besitzt die Zelle an der Peripherie eine Anzahl Centriolen, auf die das Plasma nach allen Richtungen kreuzende Strahlen konvergiert. Die Karyomeriten werden auf die Spermatiden gleich verteilt, in derem seit der 1. Reifeteilung grob vacuolisierten Plasma die Kernfragmente sich verdichten und nie ganz verschwinden. Die Centriolen, die an den extremen Teilen des mehrpoligen Netzes lagen, sammeln sich an der Kernmembran und schicken Schwanzfäden aus, die durch den sich verlängernden, von den kleinen dichten Kernen durchsetzten Plasmaleib der Spermatide ziehend, an der Schwanzseite extrazellulär werden.

Lams beobachtete, entgegen älteren Angaben, ein sehr energisches Bewegungsvermögen dieser Spermatozoiden und zweifelt nicht an ihrer Befruchtungsfähigkeit.

Mit den Beobachtungen an *Paludina* stimmen die *Murex* betreffenden in einer Reihe wichtiger Punkte (Größenverhältnisse, Karyomeriten, Vielzahl der Centriolen) völlig überein. — Die Arbeit ist nicht illustriert und trägt den Charakter einer vorläufigen Mitteilung.

P. Buchner (München).

Cary, Lewis R. The life history of *Diplodiscus temporatus* Stafford. With especial reference to the development of the parthenogenetic eggs. in: Zoolog. Jahrb. Abt. Anat. u. Ontog. Bd. XXVIII. S. 595—659. 4 Tafeln. 1909.

Der cytologische Teil der Untersuchung bezieht sich in erster Linie auf die Entstehung der Cerkarie aus der Sporocyste. Diese stellt eine echte Parthenogenese dar, denn zum ersten Male gelang es dem Verfasser, nachzuweisen, daß der Embryo der Cerkarie auf eine Zelle zurückzuführen ist, die einen Richtungskörper abschnürte. Die Chromosomenzahl 16 wird hierbei nicht reduziert. Der Reifeteilung voran geht die Bildung eines Spirems, das sich etwas anders darstellt, als das die Ovogonienteilungen einleitende. Auch die Chromosomenform ist eine andere, in den Vermehrungsteilungen sind sie hantelförmig und stehen parallel den Spindelfasern, in der Reifeteilung sind sie von oben gesehen rund, kleiner und in der Seitenansicht steht ihre Längsachse senkrecht zu den Fasern. Eine ganz merkwürdige Eigenschaft haben beide Mitosen gemein: die Teilung geht ohne Auflösung der Kernmembran vor sich. Der ganze Spindelapparat liegt mitsamt dem deutlichen Centriolenpaar intranucleär. In der Telophase schnürt sich der Kern hantelförmig ein, wenn die Zellkontur noch nicht auf eine Teilung hinweist. Das Chromatin bleibt bis zur nächsten Mitose im Centrum als Karyosoma konzentriert. Auch die Mitosen der Embryonalentwicklung verlaufen in dieser merkwürdigen Weise, die sofort an Protozoenzustände erinnern muß. In dem Vergleich mit diesen liegt auch die Hauptstütze dieser für Metazoen einzig dastehenden Teilungs-

form und wenn sie sich bestätigen wird, wird der Fall für die Entwicklung der komplizierten Mitosen aus primitiven und für die Theorie des Ursprungs der Centriolen aus dem Kern von größter Bedeutung sein.

Die Absonderlichkeit der Verhältnisse läßt den Leser aber auch die Frage stellen, ob nicht eine Täuschung vorliegen könne. Dann wird er Bilder finden, die man auch so deuten könnte, daß die Eizelle in einer Hüllzelle steckt und das Karyosoma den ganzen Kern darstellt, oder auch solche, die andern parthenogenetischen Entwicklungsstadien gleichen, in denen die Blastomeren nicht das ganze Ei aufteilen (Hymenoptera; Silvestri). Andre Figuren aber lassen sich damit wieder nicht vereinigen. — Jedenfalls macht sich der Wunsch geltend nach einer noch eifrigeren Durchforschung dieses cytologisch fast gar nicht studierten Gebiets.

P. Buchner (München).

Gutherz, S. Wird die Annahme einer Beziehung zwischen Heterochromosomen und Geschlechtsbestimmung durch das Studium der *Gryllus*-Oogenese widerlegt? in: Sitzb. naturf. Freunde Berlin. Jahrgang 1909. S. 565—575. 7. Textfig.

Der Verf. hat meine Angaben über das Heterochromosom im Ovar von *Gryllus* (P. Buchner, Das akzessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese usw. dieses Archiv Bd. III) an einer andern *Gryllus*-Spezies nachgeprüft. Er findet bei dieser ebenfalls einen chromatischen Körper, der in den Ovogonienmitosen erhalten bleibt; er verteilt sich auf beide Tochterzellen, meiner Darstellung, daß die letzten dieser Mitosen den Körper nur in eine Zelle gelangen lassen, die allein zu Eiern werden, kann Gutherz jedoch nicht beistimmen. Er findet keine entsprechenden Bilder und führt außerdem entwicklungsgeschichtliche Gründe an. Die für Heterochromosomen typische Form des Körpers im Bukettstadium, die ich weiterhin beschrieben und die vor allem die Chromosomennatur desselben offenbart, kann er nicht bestätigen. Das weitere Verhalten im wachsenden Ei wird nicht geschildert, soll aber meiner Darstellung ähnlich verlaufen. Gutherz kommt nach alledem zum Schluß, daß mein Heterochromosom überhaupt kein Heterochromosom ist und daß somit auch die ihm am Herzen liegende Geschlechtsbestimmungshypothese keinerlei Einbuße erlitten hat.

Als Nucleolus kann aber auch er den Körper nicht erklären, es bleibt also nur übrig, ein neues, bisher völlig unbekanntes Zellorganell zu proklamieren, ein Schritt, vor dem Gutherz nicht gezögert hat. Über seine Bedeutung kann man noch nichts sagen.

Was ich darauf zu entgegnen habe, findet der sich interessierende Leser des Archivs in Bd. V in dem Aufsatz: »Zur Bedeutung der Heterochromosomen, mit einer Erwiderung an S. Gutherz«.

P. Buchner (München).

Leopold Löhner, Über die Glockenformen von Säugererythrocyten und ihre Ursachen. in: Pflügers Arch. ges. Physiol. Bd. CXXXI. S. 408—424. 1910.

Franz Weidenreich hat seit 1903 in verschiedenen Publikationen die Ansicht ausgesprochen und verteidigt, daß als normale Gestalt der Säugererythrocyten nicht die bikonkave Scheiben- sondern eine konvex-konkave Glocken- oder Napfform zu gelten

habe. Unter Berücksichtigung der zahlreichen im Anschluß an diese Neuerung seither entstandenen Arbeiten hat Löhner der Reihe nach die verschiedenen Gründe geprüft, die den Straßburger Anatomen zu seiner Auffassung geführt haben und kommt seinerseits zum Schlusse, daß die Glocken wohl kaum primär gegebene, unveränderte und ungeschädigte Gebilde darstellen, sondern, wo sie tatsächlich vorhanden sein sollten, entweder Alterations- oder Modifikationstypen im Sinne Jollys sein dürften, während als Normalform nach wie vor die bikonkave Scheibe gelten soll. Ein Hauptargument des Verfassers, daß nämlich »die in den Kapillaren wahrzunehmenden Glocken als optische Einstellungsbilder aufgefaßt werden müssen, bedingt durch die wechselnden Brechungsverhältnisse zwischen Erythrocyten, Blutplasma, Gefäßrand und übergelagerten Gewebsschichten«, ist an farblosen und farbigen Glasmodellen bikonkaver Scheiben in Glasröhrchen und entsprechenden Zusatzflüssigkeiten (Wasser, Alkohol, Xylol, Glycerin) geprüft worden und: »man empfing tatsächlich den Eindruck, allerschönste glockenförmige Körper vor sich zu haben«. Weitere Versuche zur Ausschaltung allfälliger Fehlerquellen (Abkühlung, Verdunstung) wurden in einem auf Körpertemperatur erwärmten und mit Feuchtigkeit gesättigten Kasten angestellt; unter solchen Bedingungen angefertigte und untersuchte Präparate zeigten »stets und ausschließlich nur Erythrocyten in der Gestalt von bikonkaven Scheiben«.

Strohl (Zürich).

Franz Weidenreich. Über die Form der Säugererythrocyten. Eine Erwiderung an Dr. L. Löhner. in: Pflügers Arch. ges. Physiol. Bd. CXXXII. S. 143—147. 1910.

Vorstehend referierten Einwänden und Schlüssen Löhners gegenüber, die ihm nichts weniger als beweisend zu sein scheinen, muß Prof. Weidenreich durchaus auf seiner Ansicht beharren, daß die Glockenform die normale, die bikonkave Scheibenform die sekundär veränderte Gestalt der roten Blutkörperchen darstelle, zumal sich außer den 3 von Löhner angeführten Forschern Fuchs, Lewis und Ragasch auch Bonnet, Minot, Schleip, Schridde und Stöhr damit einverstanden erklärten. Daß es sich hierbei nicht um eine optische durch »Brechungsdifferenzen« hervorgerufene Täuschung handeln kann, geht daraus hervor, daß beim Eintritt von Stauung oder längere Zeit nach dem Tod Glocken und bikonkave Scheiben in den gleichen Kapillaren nebeneinander gesehen werden. Hauptsache ist nur rasches Hantieren! Dann erkennt man deutlich vor Eintritt der Geldrollenbildung die Glockenform der isolierten Blutkörperchen. Löhners umständlicher Apparat trage nur zu einer Verzögerung der Beobachtung bei. — Auch die durch Fixierung mit Osmiumsäure gewonnenen »Glockenpräparate« sind durchaus nicht eine Folge von Quellungsprozessen, wie Löhner vermutet; denn, wenn man einige Zeit zwischen dem Auspressen des Blutes und der Fixation verstreichen läßt, so erhält man mit demselben Verfahren ebenso sicher bikonkave Scheibenformen.

Strohl (Zürich).

Über die Beziehung zwischen dem Chromatin und der Entwicklung und Vererbungsrichtung bei Echinodermenbastarden.

Von

Dr. F. Baltzer.

(Aus dem Zoologischen Institut Würzburg.)

Mit 19 Textfiguren und Tafel XXV—XXIX.

Inhalt.

Einleitung.

Die vorliegende Arbeit wurde unternommen als Beitrag zu den Forschungen, welche schon seit langen Jahren über die Entwicklung der Echinidenbastarde gemacht worden sind. Bekanntlich knüpfen sich daran Fragen von hoher theoretischer Bedeutung. Es handelt sich darum, in welchem Bestandteil der Keimzelle die Vererbungssubstanz lokalisiert ist, und welchem Zellbestandteil bei der Bestimmung der Vererbungsrichtung die Entscheidung zufällt.

Durch Herrn Professor Boveri wurde mein Interesse auf die pathologisch sich entwickelnden Kombinationen der Echinidenbastarde gelenkt und mir deren Untersuchung als aussichtsreiches Problem empfohlen. Ferner schien es aus der Literatur hervorzugehen, daß die Vererbungsrichtung bei den Echinidenbastarden nicht immer dieselbe ist. Die Nachkommen gewisser Kombinationen scheinen vorwiegend oder vollständig mütterlich zu sein. Meine Untersuchung hatte zuerst das Resultat, daß die Erkrankung der einen pathologisch sich entwickelnden Kombination — *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ — in einem abnormen Verhalten des Chromatins und zwar, nach allen Anzeichen, des väterlichen Chromatins ihre Ursache hat. Ferner zeigte sich, daß ein geringer Prozentsatz der Keime die Krankheit übersteht und sich zum Pluteus entwickelt, wobei nur mütterliche Skeletcharaktere ausgebildet werden. So mußten diese Bastarde wichtige Kriterien für die Rolle der Chromosomen bei der Übertragung der elterlichen Eigenschaften darstellen, weshalb ich darnach trachtete, die Untersuchung so weit als möglich nach dieser Seite auszudehnen.

Es wurden möglichst zahlreiche Bastardkombinationen zwischen den Echiniden untersucht, um eine möglichst vielseitige Grundlage zur Beantwortung dieser Frage zu gewinnen. Immer war dabei die Kombination von Züchtung und cytologischer Untersuchung die leitende Richtlinie. Schließlich wurden auch noch die Echiniden ♀ × *Antedon* ♂-Bastarde in den Kreis der Arbeit einbezogen.

Die Experimente wurden im Winter 1908/09 und Frühjahr 1909 an der zoologischen Station zu Neapel ausgeführt, deren Leitung ich hier meinen besten Dank aussprechen möchte. Für die Überlassung des schweizerischen Arbeitsplatzes an der Station bin ich dem schweizerischen Departement des Innern zu Dank verpflichtet.

Vor allem aber danke ich Herrn Professor Th. Boveri, in dessen Institut die Arbeit weiter ausgeführt wurde und dessen Anregungen nicht nur für den Beginn der Arbeit entscheidend waren, sondern auch der weiteren Untersuchung fortwährend zugute kamen.

Material.

Zur Verwendung gelangten die vier in Neapel häufigen Echinidenspecies[1]):

Strongylocentrotus lividus,
Echinus microtuberculatus,
Sphaerechinus granularis,
Arbacia pustulosa.

Aus der Gruppe der Crinoiden wurde verwendet:

Antedon rosacea[2]).

Methoden.

1. Sterilisieren. Das zu den Versuchen gebrauchte Seewasser wurde durch Erwärmen auf 70° C von Spermatozoen befreit. Die zu den Versuchen verwendeten Instrumente und Glasschalen wurden nach derselben Methode behandelt. Die Tiere wurden zuerst außen gründlich mit Süßwasser gereinigt, dann, nachdem die Schale geöffnet worden war, mit Süßwasser ausgespült und die Geschlechtsorgane herausgenommen. Natürlich sind die Instrumente, und namentlich die Pipetten für jedes Tier und für jeden Versuch wiederum in siedendem Wasser sterilisiert worden.

2. Die Kreuzbefruchtung. In normalem Seewasser hatten die Versuche nur hier und da einen Erfolg; so bei den Kombinationen

Sphaer ♀ × *Strong* ♂,
Strong ♀ × *Arb* ♂,
Ech ♀ × *Sphaer* ♂.

Deshalb wurde von Anfang an die Befruchtung in Seewasser mit erhöhtem Hydroxylgehalt nach Loebschem Rezept (1904) ausgeführt. Nebenher wurde in vielen Fällen noch eine Bastardbefruchtung in gewöhnlichem Seewasser versucht. Ein einziges Mal lieferte eine Kultur *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ in normalem Seewasser mehr befruchtete Keime als in der alkalischen Lösung.

Die Konzentration dieser Lösung wurde verschieden genommen. Für *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ genügte ein Zusatz von 1 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH auf 100 ccm Seewasser, um im günstigsten Fall bei etwa 90% aller Eier die

---

[1]) Ich gebrauche von nun an folgende Abkürzungen: *Strong, Ech, Sphaer, Arb.*
[2]) Abkürzung: *Ant.*

Befruchtung zu ermöglichen. Bei den übrigen Kombinationen aber gelang das Experiment besser bei höherem NaOH-Gehalt:

2,0—2,5 ccm pro 100 ccm Wasser.

Das Resultat bei den eingehend untersuchten und deshalb oft wiederholten Bastardkombinationen war bei dieser Behandlung folgendes:

Strong ♀ × *Sphaer* ♂, etwa 15% aller Eier befruchtet,
Strong ♀ × *Arb* ♂, alle Eier befruchtet.

Weniger gut war das Ergebnis bei *Ech* ♀ × *Sphaer* ♂; aber auch hier brachte die Anwendung von 2,0 ccm-NaOH-Lösung den besten Erfolg.

Von allen Autoren ist die große individuelle Verschiedenheit der Bastardierungsmöglichkeit hervorgehoben worden. Ich will hier nur zwei Parallelserien vom 1. XII. 08 zur Bestätigung dieser Erfahrung beibringen.

Die Eier von zwei verschiedenen *Strong*-♀, *A* und *B*, wurden mit dem gleichen *Arb*-Sperma befruchtet, zur gleichen Zeit, unter gleichen Bedingungen. Auch die zum Versuch verwendeten Eimengen waren ungefähr dieselben. Die Tabelle gibt an, wie viele Eier (ungefähr) bei jeder Konzentration befruchtet wurden.

Gehalt an ccm $\frac{n}{10}$ NaOH auf 100 ccm Seewasser	0,25	0,5	0,75	1,0	1,25	1,5	1,75	2,0	2,25
Eier von *Str.* A	0	0	0	0	0	0	0	einige	sehr wenige
Eier von *Str.* B	0	0	1	0	ziemlich viele	viele	ziemlich viele	alle	alle

Konzentration über 2,5 ccm hatte keinen günstigen Erfolg. Mehrfach wurde 3,5 ccm-Lösung versucht: die Befruchtung verlief nicht normal; die Eihaut hob sich nicht gut ab, der Prozentsatz an befruchteten Eiern war gering.

In der Regel ließ ich die Loebsche Lösung etwa $^3/_4$ Stunden auf die zum Versuch bereit gestellten Eier einwirken. Dann wurde das Sperma in großen Mengen zugesetzt und etwa 10 Min. später die Eier wieder in reines, sterilisiertes Seewasser übertragen.

3. Die Kontrollkultur. Es ist selbstverständlich notwendig, daß man stets eine Kontrollkultur von homosperm befruchteten Eiern desselben Tieres aufstellt, da man bei der Vergleichung des Skelets auch die Kontrollkultur auf typische Skeletbildung prüfen muß. Außerdem bedarf man ihrer zum Vergleich der Entwicklungszeiten. Eine Prüfung des Skelets

war mir leider in vielen Fällen deshalb unmöglich, weil sich in den konservierten Plutei (neutrales Formol, Osmiumsäure) während des halbjährigen Lagerns des Materials in Alkohol oder Formol *n.* alle Kalkstäbe aufgelöst hatten. Ich war daher auf die Notizen und Zeichnungen angewiesen, die während der Versuche gemacht worden waren.

4. Die Parthenogenese verlangt einige Beachtung. Es ist öfters beobachtet worden, (Loeb, 1904, S. 344; Godlewski, 1906, S. 583) und es bestätigte sich auch in meinen Versuchen, daß die Eier unter der Einwirkung des alkalischen Seewassers gelegentlich zur Entwicklung angeregt werden. Nicht alle Kulturen wurden auf das Vorkommen von Parthenogenese untersucht. In den untersuchten fanden sich jedoch nur vier Keime, bei denen eine parthenogenetische Entwicklung einigermaßen aussichtsreich eingesetzt hatte, und auch diese gingen nach einigen unregelmäßigen Teilungen zugrunde. Loeb (1904, S. 344) hat dieselbe Beobachtung gemacht. Ich werde auf diese Frage in den Fällen, deren Zuverlässigkeit durch die Möglichkeit der Parthenogenese gefährdet sein könnte, zurückkommen.

5. Fixierungs- und Färbungsmethoden. Mit sehr großem Vorteil benutzte ich das Schneidersche Essigsäurekarmin. Die damit hergestellten Präparate eignen sich vorzüglich zur Feststellung des Verlaufs der Kernteilungen, ferner zur Zählung der Chromosomen. Boraxkarmin leistete bei größerem Zeitverbrauch viel geringere Dienste. Für die eingehende Untersuchung der Entwicklungsstadien bis zur Ausbildung der Skeletdreistrahler wurden Serien in Pikrin-Essigsäure (Boveri, 1901, S. 30) eingelegt, dann geschnitten und mit Heidenhains Eisenhämatoxylin gefärbt. Bei genügendem Material und besonders dann, wenn ein höherer Prozentsatz von Eiern befruchtet worden war, wurden größere Eimengen zum Einbetten in Paraffin nach der von Boveri (1895, S. 4) angegebenen Methode in *Cryptobranchus*-Haut eingewickelt. Die Säckchen lassen sich bequem schneiden.

War jedoch der Prozentsatz an befruchteten Eiern nur gering oder handelte es sich um die seltenen Spermakernspindeln oder Tetraster, so mußte zum Einbetten und Schneiden die Methode von Yatsu (1904) angewendet werden. Sie erlaubt, jedes Ei mit Sicherheit in der Richtung seiner Spindel zu schneiden. Die Orientierung der Schnittebene verursachte nach einiger Einübung keinerlei Schwierigkeit.

Die älteren Stadien — Gastrula, Pluteus — wurden, soweit das Skelet untersucht werden sollte, in Osmiumsäure fixiert und mit Magnesium-Pikrokarmin (P. Mayer) gefärbt. Da jedoch, wie schon oben bei Besprechung der Kontrollkultur erwähnt, das Skelet im Alkohol bis auf geringe Reste zerstört wurde, sah ich mich in dieser Beziehung auf

die Zeichnungen nach lebenden oder mit Formol frisch getöteten Larven und auf die Notizen der Versuchsprotokolle beschränkt.

Für das Studium der Kerngrößen wurden die Larven mit Pikrin-Essigsäure fixiert.

---

6. Methode der Vergleichung der Kerngröße (Boverische Proportion). Da sich die vorliegende Arbeit sehr oft mit den Kerngrößen der Plutei beschäftigt und daraus auf die Anzahl der in den Kernen enthaltenen Chromosomen zurückgeschlossen wird, möge hier diese Rechnungsmethode kurz besprochen werden. Sie beruht auf der von Boveri gefundenen Beziehung, welche besagt, »daß die Kernoberfläche der Chromosomenzahl direkt proportional ist« (1905, S. 74). Mit Hilfe dieses Satzes können wir annähernd feststellen, wie viele Chromosomen in den Kernen der Bastardplutei enthalten sind. Dabei wurden zur Gewinnung genauer Resultate berücksichtigt, daß Boveris Untersuchung sich auf Larven derselben Species, aber mit verschiedenem Chromosomenbestand bezieht. Es ist klar, daß wir bei Anwendung der Proportionalität auf Bastarde verschiedener Species zuerst einen Vergleich zwischen den Kerngrößen der Plutei beider elterlichen Species ziehen und sein Resultat der weiteren Rechnung zugrunde legen müssen.

Spezieller Teil.

I. Die beiden Kombinationen Ech ♀ × Strong ♂ und Strong ♀ × Ech ♂.

Die Möglichkeit der Bastardierung ist, wie schon O. und R. Hertwig (1886, S. 129) und Vernon (1898, S. 485 ff.) beobachteten, verschieden. Die beigefügte Zusammenstellung diene zur Illustration des Gesagten.

	Kontrollkultur	Bastardkultur	Alkaligehalt pro 100 ccm Seewasser
Ech ♀ × *Strong* ♂	alle befruchtet	alle befruchtet	1,5 ccm
Strong ♀ × *Ech* ♂	alle befruchtet	wenige befruchtet	2,25 »
do.	alle befruchtet	äußerst wenige befruchtet	1,75 »
do.	alle befruchtet	sehr selten eines befruchtet	2,25 »

Ech ♀ × *Strong* ♂ liefert fast immer, auch in gewöhnlichem Seewasser (Vernon) einen sehr hohen, *Strong* ♀ × *Ech* ♂ dagegen auch in Lösung von hohem Alkaligehalt nur einen niedrigen Prozentsatz befruchteter Eier.

1. Die Entwicklung verläuft wie bei den Kontrollkulturen ohne bemerkenswerte Verspätung. Die Mesenchymzellen ordnen sich zum charakteristischen Ring.

a) *Ech* ♀ × *Strong* ♂.

Bastardkultur				Kontrollkultur *Ech*
Befruchtung	1 Uhr 45 Min.	16. I. 09.	1 Uhr 45 Min.	Befruchtung
Blastulae mit Mesenchymzellen-Einwanderung . . .	8 Uhr abends	17. I.	8 Uhr abends	Blastulae gastrulieren
Prisma.	11 Uhr	18. I.	11 Uhr	Prisma; einige Jungplutei
Plutens		19. I.		Pluteus

Unter dem Stadium des Prismas, einem, soviel ich sehe, von Driesch (1896) eingeführten Terminus, verstehe ich mit Schmidt (1904) das Stadium mit zugespitztem Akron, mit nach vorn gewendetem Urdarm und großen Skeletdreistrahlern (vgl. Schmidt, S. 321). Die Plutei waren oft deformiert. Sie zeigten aber niemals in ihrer Leibeshöhle Ballen von degenerierten Zellen, wie es für die Kombinationen mit *Sphaer*-♂ charakteristisch sein wird. Das Skelet der normalgebildeten Larven stimmt mit demjenigen von *Strong* und *Ech* überein. Abweichende Formen kamen zuweilen sowohl in der Kontrollkultur, wie in der Bastardkultur vor. Sie zeigten Scheitelstäbe mit verzweigten Keulen und doppelte Analstäbe.

b) *Strong* ♀ × *Ech* ♂.

Bastardkultur				Kontrollkultur *Strong*
Befruchtung	11 Uhr	16. I.	11 Uhr	Befruchtung
Prisma.	11 Uhr	18. I.	11 Uhr	Prisma
Pluteus	11 Uhr	19. I.	11 Uhr	Pluteus

Für sich genommen sagen diese Daten nur, daß Bastard und Kontrolle sich in gleichem Tempo entwickeln. Wir werden sie jedoch später zu Vergleichen mit andern Kombinationen benutzen. Sie stimmen mit den Angaben von Driesch (1898, S. 75) überein. In zahlreichen Fällen zeigte sich, ebenso wie bei der Kombination *Ech* ♀ × *Strong* ♂ eine Vermehrung der Analstäbe, zuweilen auch der Scheitelstäbe. Ob dies jedoch auf eine Störung infolge der Bastardierung zurückgeführt werden kann, ist fraglich, denn die Kontrollkulturen zeigten, wenn auch

in selteneren Fällen, dieselbe Erscheinung. Da sich die Plutei von *Strong* und *Ech* in ihrem Hauptcharakteristikum, dem Skelet, für unsre Zwecke zu wenig unterscheiden, läßt sich über den Einfluß der beiden Elternspecies auf die Entwicklungsrichtung keine Aussage machen.

2. Der cytologische Befund. Die Kernteilungen der ersten Furchungen verlaufen in derselben Weise wie bei den Kontrollkulturen. Wir werden später sehen, daß andre Kombinationen hierin andre Verhältnisse zeigen.

Die Chromosomen von *Ech* ♀ × *Strong* ♂ habe ich in einer früheren Arbeit (1909a) beschrieben. Es lassen sich in den Spindeln die für die beiden Species charakteristischen paarigen Elemente nachweisen: Stäbchen und Haken, außerdem eines der in den reinen *Echinus*-Furchungsspindeln paarigen Hufeisenchromosomen.

Über die in der früheren Arbeit erwähnten unpaaren Elemente bei *Strong* und *Ech*, für die eine Deutung als Geschlechtschromosomen möglich schien, kam ich zu keinem klaren Resultat. Die früheren Ergebnisse, soweit sie Form und Zahl betrafen, ließen sich allerdings wiederholt, und zwar auch in Kombinationen mit *Sphaer* ♂ und *Arb* ♂ nachweisen. Die Herkunft aber konnte nicht klargestellt werden.

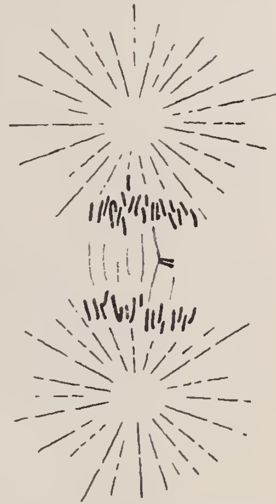
Von der Kombination *Strong* ♀ × *Ech* ♂ gebe ich in Textfig. I eine Spindel eines Vierzellen-Stadiums. Das Präparat wurde mit Essigkarmin gefärbt. Die Anzahl der hier nicht vollständig eingezeichneten Chromosomen beträgt etwa 30. Ich gebe im folgenden die Resultate von 8 Zählungen, sämtlich an Spindeln von Acht-Zellenstadien aus Essigsäure-Karminpräparaten durchgeführt. Meistens wurden beide Platten der in Metaphase befindlichen Spindeln gezählt. Die beiden Werte stehen in der Tabelle jeweilen nebeneinander.

	31	32
	31	33
	31	33
	31	
	34	34
	34	34
	34	34
	30	29
Mittel:	32	

Außerdem führte ich neun Zählungen an ganz jungen Blastulis aus: Durchschnittsresultat ebenfalls 32.

Auf einen Umstand muß hier aufmerksam gemacht werden, weil dadurch die genaue Zählung erschwert, ja oft unmöglich gemacht wird. Wie ich bei früherer Gelegenheit (1909a) auseinandergesetzt habe, kommen in den elterlichen Species zwei hakenförmige Elemente vor, die sich auch im Bastard wiederfinden. Im Querschnitt, d. h. vom Pol aus gesehen geben sie das Bild einer Hantel oder zweier nahe beisammen liegender Punkte. Es leuchtet ein, daß sie oft von zwei nahe benachbarten stäbchenförmigen Elementen nicht zu unterscheiden sind, denn diese erscheinen im Querschnitt auch als Punkte. Da nun mindestens zwei Haken vorhanden sind, unterliegt die Zählung einer Fehlermöglichkeit von zwei Einheiten.

Bekanntlich beträgt die Zahl der in jedem Vorkern enthaltenen Chromosomen bei *Ech* wie auch bei *Strong* 18. Die Chromosomenzahl des Bastards sollte sich demnach auf 36 belaufen. Die Zählungen haben aber ein kleineres Resultat geliefert. Wie die verminderte Chromosomenzahl zustande kommt, läßt Textfig. I vermuten: die Platten der Tochterchromosomen liegen weit auseinander. Zwischen ihnen jedoch befindet sich ein noch ungespaltenes Chromosoma. Es wäre nicht undenkbar, daß die Restitution der Tochterkerne vor sich geht, ohne daß dieses Element noch einbezogen wird. Infolge davon wären in den weiteren Teilungen nur mehr 35 Chromosomen vorhanden. Derartige Figuren mit Nachzüglern, welche übrigens auch in normalbefruchteten Eiern zuweilen vorkommen, habe ich öfter beobachtet. Niemals waren freilich, wie man erwarten sollte, außerhalb der Kerne chromatische Körper, welche solchen zurückgebliebenen Elementen entsprechen könnten, im Protoplasma aufzufinden.



Textfig. I.
Spindel aus einem Vierzellen-Stadium. Vergr. 1 : 1250.

Nach allen diesen Beobachtungen ist anzunehmen, daß sämtliche oder beinahe alle Chromosomen der Geschlechtszellen beider Eltern in den Kernen der Bastardlarve vertreten sind. Eine Bestätigung dafür liefert uns die Vergleichung der Kerngrößen der Plutei. Die *Strong*-Plutei haben gleich große oder nur um ein geringes größere Kerne wie diejenigen von *Echinus* — gleiches Alter der Larven vorausgesetzt. Zum Vergleich wurden dabei Kerne der Scheitelregion genommen, die meistens ungefähr Kugelform haben und nur selten abgeplattet sind. Die beiden

Bastarde *Ech* ♀ × *Strong* ♂ und *Strong* ♀ × *Ech* ♂ waren in ihrer Kerngröße von den Larven der elterlichen Species nicht wesentlich verschieden. Da nach Boveri (1905) die Oberfläche der Kerne der Chromosomenzahl proportional ist, müssen wir schließen, daß in den Kernen der volle Chromosomenbestand noch vorhanden ist.

II. Die beiden Kombinationen von Strong und Sphaer.

Die Bastardierungsmöglichkeit ist bei den zwei Kombinationen stark verschieden. Die Kreuzung *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ ist viel leichter ausführbar als die umgekehrte: *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂. Man vergleiche in dieser Hinsicht die beigefügte Tabelle (S. 506), welche die vier besten Kulturen aus beiden Kombinationen vereinigt. *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ steht noch um so weiter zurück, als die Zahl der angelegten Kulturen dieser Kombination diejenige von *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ um ein vielfaches übertrifft.

Sphaer ♀ × *Strong* ♂.

Reihe	Bastardzucht	Kontrolle *Sphaer*	Na O H-Konzentration
A	90 % aller Eier befruchtet	alle Eier befruchtet	0,5
B	fast alle Eier befruchtet	alle	0,75
C	sehr viele Eier befruchtet	fast alle	norm. Seewasser
D	zahlreiche Eier befruchtet	alle	do.
	Strong ♀ × *Sphaer* ♂.		
A	30 % der Eier befruchtet	alle	1,75
B	ziemlich viele Eier befruchtet	alle	2,0
C	do.	alle	2,5
D	do.	alle	2,0

Auch der Prozentgehalt an NaOH muß bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ beträchtlich höher sein als bei *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂, um den besten Erfolg zu erreichen, wie die letzte Kolonne zeigt, in der die Anzahl ccm $\frac{n}{10}$ NaOH-Lösung auf 100 ccm Seewasser angegeben ist. Bei einigen *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂-Zuchten ließ sich sogar in gewöhnlichem Seewasser ein günstiges Resultat erreichen. Bekanntlich lieferte gerade diese Kombination den meisten Autoren das Arbeitsmaterial. Sie wurde schon von O. und R. Hertwig (1886) bis zum Pluteus gebracht. Für unsre Untersuchung ist jedoch die andre, *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂, von größerer Wichtigkeit, weil sie sowohl in ihrer Entwicklung, wie auch in den cytologischen Verhältnissen vom gewöhnlichen Verlauf abweicht.

A. Sphaer ♀ × Strong ♂.

Die befruchteten Eier furchen sich, wie schon von Driesch (1898) nachgewiesen, in ungefähr gleichem Tempo wie die Mutterspecies (vgl. dagegen Fischel, 1906, S. 504). In späteren Stadien zeigt sich eher eine Tendenz, hinter der Kontrollkultur zurückzubleiben. Auch dies steht in Übereinstimmung mit Beobachtungen andrer Autoren (Seeliger, 1895, S. 208; Driesch, 1898; Fischel, 1906, S. 504). Die Blastulae gastrulieren ohne Schwierigkeit. Der Mesenchymzellenring wird gebildet; die Skeletdreistrahler legen sich an. Etwa 5 Tage nach der Befruchtung wird das Pluteusstadium erreicht. Öfters blieben allerdings nach meiner, wie nach der Erfahrung andrer Autoren die Larven auf dem Stadium des Prismas stehen.

1. Der Pluteus.

Da für unsre Untersuchung das Skelet des Pluteus die wichtigsten Beobachtungen liefert, sei eine kurze Charakteristik desselben bei den beiden Elternspecies vorausgeschickt. Vgl. Fig. 1 und 3 (Taf. XXV), welche, obgleich Bastardlarven von *Strong* und *Sphaer*, denselben Bauplan zeigen. Der Pluteus stellt einen bilateral-symmetrisch gebauten, bei *Strong* schlankeren, zugespitzten, bei *Sphaer* breiteren, gewölbten und oben abgestumpften Kegel dar, dessen Basis sich in zwei Lappen verlängert. Diese Lappen, der Oral- und der Anallappen, teilen sich jeder in zwei Arme; auf diese Weise kommt es zur Bildung von zwei Oral- und zwei Analarmen. Das Skelet beider Species ist bilateral-symmetrisch gebaut. Es besteht jederseits aus vier Stäben, welche an der Basis des kegelförmigen Körpers der Larve, seitlich der Medianebene in ein kurzes Verbindungsstück zusammenlaufen und folgendermaßen orientiert sind.

Strong: Ein Stab läuft jederseits aufwärts gegen den Scheitel: Scheitelstab. Er ist bei *Strong* keulig angeschwollen, ist glatt oder höchstens von kleinen Spitzen besetzt.

Ein einfacher Stab verläuft jederseits im Analarm: Analstab; ein Stab in jedem Oralarm: Oralstab; ein Stab — der Mittelstab — verläuft gegen die Medianebene und vereinigt sich dort mit dem Mittelstab der andern Seite.

Sphaer: Das Skelet dieser Species weicht vom *Strong*-Skelet in folgenden für uns wichtigen Punkten ab:

Der Scheitelstab schwillt an seinem Ende nicht keulig an, sondern verzweigt sich und bildet mit den Ästen des Scheitelstabs der andern Seite und zwei von den Oralstäben abgehenden Ästen ein viereckiges, in der breiten Kuppe des Pluteus verlaufendes Gerüst: den Scheitelrahmen.

Der Analstab ist nicht einfach, wie bei *Strong*, sondern aus drei oder vier durch zahlreiche Querbrücken verbundenen Parallelstäben zusammengesetzt. Er wird als Gitterstab bezeichnet.

Der Oralstab ist wie bei *Strong* einfach. Er entsendet jedoch, bevor er in den Orallappen umbiegt, einen Ast gegen den Scheitel, welcher sich dort mit dem Partner der andern Seite und den Ästen der Scheitelstäbe zu dem schon genannten Scheitelrahmen verbindet.

Abweichungen von den beschriebenen Typen kommen öfters vor: *Strong* hat zuweilen doppelte Stäbe in den Analarmen und größere Zacken, manchmal sogar Verzweigungen an den Keulen. Bei *Sphaer* kommt der Scheitelrahmen oft nicht zur Ausbildung. Besonders SEELIGER (1895, 1896) und STEINBRÜCK (1902) haben diese Abweichungen bei beiden Species beschrieben und abgebildet. Sie arbeiteten mit Material, welches in Triest gezüchtet worden war. Augenscheinlich kommen bei den Plutei von Neapel weniger Variationen und abnorme Formen vor als an den Triester (vgl. BOVERI, 1896).

Das Skelet der Bastardplutei *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂. In Fig. 1 (Taf. XXV) ist ein Bastardpluteus vom 6. Tag nach der Befruchtung abgebildet. Sein Skelet trägt intermediären Charakter: Die Scheitelstäbe schwellen nach dem Ende zu an, verzweigen sich jedoch geweihartig, ohne aber einen Scheitelrahmen zu bilden. In den Analarmen verlaufen zwei oder drei Stäbe. Querbrücken fehlen. Die Oralstäbe tragen keine Dorsaläste.

Da diese Plutei schon von zahlreichen Autoren, zuerst von MORGAN (1896, S. 277), beschrieben worden sind, brauche ich nicht weitläufig zu werden. Ich habe bei meinen allerdings nicht ausgedehnten Untersuchungen an lebenden Kulturen niemals Plutei von rein oder überwiegend väterlichen, auch niemals solche von mütterlichen Skeletcharakteren gefunden.

Den Literaturangaben schließt sich dieser Befund ohne Schwierigkeit an. Von allen Autoren[1]) wird angenommen, daß die Charaktere der elterlichen Species im Bastardskelet gemischt erscheinen. Alle betonen die starke Variabilität der Skeletbildung. In einzelnen Fällen kann sogar die Form des einen Komponenten rein erscheinen, wie von VERNON (1898) und STEINBRÜCK (1902) beobachtet wurde. Es ist aber die Regel, daß väterliche und mütterliche Charaktere zugleich nachweisbar sind.

---

[1]) MORGAN, 1896; VERNON, 1898; DRIESCH, 1898; STEINBRÜCK, 1902; DONCASTER, 1903; BOVERI, 1903; HERBST, 1906, 1907; FISCHEL, 1906. Vgl. auch die Autoren, welche über die analoge Kombination *Sphaer* ♀ × *Ech* ♂ gearbeitet haben und zu gleichen Ergebnissen gelangten: BOVERI, 1889, 1896, 1903; SEELIGER, 1895, 1896; MORGAN, 1896.

2. Die cytologische Untersuchung.

Das Verhalten der Chromosomen während der ersten Teilungen. Ei- und Spermakern verschmelzen zu einem einheitlichen Furchungskern. Die Chromosomen, welche aus ihm hervorgehen, ordnen sich zur Äquatorialplatte. Das für die Untersuchung der Chromosomen wichtige Stadium, die Metaphase wird, wie bei *Sphaer*, 2—2 $^1/_4$ Std. nach der Befruchtung erreicht. Wir finden in der Bastardspindel die charakteristischen *Strong*- und *Sphaer*-Elemente vereinigt, natürlich jeweilen nur in der halben Anzahl, wenn wir mit den Furchungsspindeln der elterlichen Species vergleichen. Bevor ich jedoch die Beschreibung des Chromosomenbestandes im Bastard beginne, muß ich auf die Elemente der Species *Strong* und *Sphaer* selbst eingehen. Die Chromosomen von *Strong* habe ich in einer früheren Arbeit (1909a) ausführlich beschrieben und abgebildet. Als charakteristisches Element ist ein langes hakenförmiges Chromosoma vorhanden, in den Furchungsspindeln paarig, in Spindeln, welche nur die Elemente des Spermakerns oder Eikerns enthalten, in der Einzahl. Die Chromosomenzahl beträgt in Furchungsspindeln 36; auf jeden Vorkern entfallen davon 18.

Die Chromosomen von *Sphaer* sind in Fig. 21 *a* und *b* (Taf. XXVIII) bei 3230facher Vergrößerung dargestellt. Die Abbildung bezieht sich auf eine I. Furchungsspindel. Die Spaltung hat stattgefunden; was wir sehen, sind die zu Tochterplatten geordneten Tochterchromosomen. Die beiden Teilbilder entsprechen den zwei Schnitten, auf welchen die Spindel getroffen war. Die Sphären sind der Raumersparnis wegen nicht gezeichnet. Alle Chromosomen sind stäbchenförmig, jedoch von sehr verschiedener Länge; vier sind besonders lang, zwei davon in Fig. 21 *a*, die beiden andern in Fig. 21 *b*. Sie übertreffen an Länge sowohl die nächstkürzeren der eigenen Species wie auch die längsten unter den *Strong*-Elementen. Stets sind sie leicht zu erkennen. Nach den Erfahrungen über das paarige Vorkommen der Chromosomen bei *Strong* und *Ech* ist anzunehmen, daß jeder Vorkern zwei dieser langen Elemente geliefert hat.

Ein Chromosoma, dem Haken bei *Strong* vergleichbar, habe ich bei *Sphaer* niemals gefunden.

Über die Zahl der *Sphaer*-Chromosomen gibt Fig. 22 Aufschluß, darstellend eine Tochterplatte aus einer in Metaphase befindlichen Spindel eines Zweizellen-Stadiums. Die Vergrößerung ist wieder 3230fach. Ich möchte betonen, daß sich diese wie auch alle entsprechenden Bilder andrer Kombinationen zu Dickenmessungen bei Chromosomen nicht eignen infolge der Färbung mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. Die Bilder

sind, wie die ihnen zugrunde liegenden Präparate nur für Längenmessungen und zahlenmäßige Feststellungen zuverlässig. Fig. 22 besteht aus 40 Chromosomen, zum Teil der Länge nach, zum Teil im optischen Querschnitt sichtbar, je nach der Orientierung zur optischen Ebene.

Neun weitere Zählungen an Spindeln ungeteilter oder zweigeteilter Eier lieferten als Durchschnittswert 39,9; die Schwankungen im einzelnen bewegen sich zwischen 39 und 41. Eine willkommene Ergänzung dieser Zählungen ermöglichte eine Kultur, in deren Eiern noch zahlreiche II. Richtungsspindeln entwickelt waren. Die hier zum Teil an Äquatorialplatten, zum Teil an Tochterplatten gewonnenen Zahlen — 19 oder 20 — lieferten als Mittelwert 19,7. Die Chromosomenzahl der befruchteten *Sphaer*-Eier beträgt somit sehr wahrscheinlich 40, wovon 20 auf den Eikern und 20 auf den Spermakern entfallen würden.

Kehren wir nun zu den Bastardspindeln zurück. In Fig. 23 *a* und *b* (Taf. XXVIII) sind die Chromosomen einer Spindel aus einem Zweizellen-Stadium wiedergegeben. Wir finden in der Tat den langen, aus dem *Strong*-Spermakern stammenden Haken (Fig. 23 *a*), ebenso die beiden aus dem *Sphaer*-Eikern hervorgegangenen, besonders langen Stäbchen (Fig. 23 *b*), welche zwar nicht so lang sind, wie die in Fig. 21 dargestellten, wohl aber nahmhaft länger als alle übrigen Stäbchen. In Fig. 24 *a* und *b* sind die beiden Tochterplatten einer Spindel aus einem Zweizellen-Stadium in Polansicht dargestellt. Jede enthält 38 Chromosomen, von denen wir nach unsern bisherigen Erfahrungen 18 dem *Strong*-Spermakern, 20 aber dem *Sphaer*-Eikern zuweisen müssen.

Zur sicheren Feststellung der Chromosomenzahl wurden, zum Teil an Tochterplatten in Polansicht, zum Teil an solchen in Seitenansicht, 18 Zählungen ausgeführt; achtmal wurden 38, ebenso oft 37 und zweimal 39 Elemente gezählt. Durchschnitt: 37,6. Diese Zahlen entsprechen dem Wert, zu dem wir gelangen, wenn wir annehmen, daß alle Chromosomen der väterlichen wie der mütterlichen Geschlechtszelle die Mitosen mitmachen.

So ergibt sich daraus folgendes Resultat: In der Bastardkombination *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ treten sämtliche Chromosomen in die Mitose ein und machen den typischen Teilungsprozeß mit.

Die Größe der Kerne des Bastardpluteus. Das eben festgesetzte Resultat läßt sich ohne weiteres nicht auf die späteren Stadien, auf den Pluteus, ausdehnen. Es könnte eine Elimination von Chromosomen erst später eintreten, wenn Chromosomenzählungen nicht mehr sicher durchzuführen sind. Bei der Regelmäßigkeit der Entwicklung ist dies nicht wahrscheinlich, immerhin aber nicht ganz ausgeschlossen nach

Erfahrungen, die wir in einem späteren Kapitel besprechen werden. Hier setzen die Größenmessungen an den Kernen der Plutei ergänzend ein, deren Methode in der Einleitung (S. 502) näher erörtert wurde. Die Kernoberfläche ist der Zahl der im Kern enthaltenen Chromosomen direkt proportional (BOVERI, 1905, S. 74). Vergleichen wir vorerst die Plutei der beiden elterlichen Arten, so zeigt sich, daß *Sphaer* etwas größere Kerne hat als *Strong.* Es sei daran erinnert, daß auch die Chromosomen bei *Sphaer* durchschnittlich etwas länger und außerdem um vier zahlreicher sind als bei *Strong.* In Fig. 2 *a* sind Kerne aus dem Scheitel eines 8 Tage alten *Sphaer*-Pluteus, in Fig. 4 *a* solche aus einem ebenso alten *Strong*-Pluteus abgebildet, beide in 2417facher Vergrößerung. Der Unterschied ist deutlich. Bei den Bastarden ist, wenn wir annehmen, daß die Kerne der Larven den vollen Chromosomenbestand haben, eine Kerngröße zu erwarten, welche zwischen den elterlichen Species ungefähr die Mitte hält.

Für unsre Kombination *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ kann ich hierfür den vollgültigen Nachweis nicht erbringen, da mir die Plutei der Kontrollkultur zu dem abgebildeten Bastardpluteus fehlen. Wohl aber ließ sich der Vergleich bei der Kombination *Sphaer* ♀ × *Ech* ♂ durchführen, welche, wie wir später sehen werden, in allen Stücken analog ist und deshalb, soweit es die Kerngröße betrifft, gleich hier besprochen sein möge.

Für *Sphaer* wurde aus 44 Kernen aus den Scheitelbereichen dreier 8 Tage alter Plutei der Mittelwert der Kernoberfläche berechnet[1]): 53,4.

Es sind darunter auch die in Fig. 2 *a* (Taf. XXV) dargestellten Kerne. Die Kernoberfläche eines ebenso alten Bastardpluteus, aus 15 Kernen berechnet, betrug 46,7.

Die Kernoberfläche der *Echinus*-Larve wurde für zwei Fälle aus verschiedenen Kulturen auf 33,3 berechnet.

Sie ist damit annähernd gleich derjenigen von *Strong*, für die zahlreiche Messungen[2]) vorliegen mit dem Durchschnittsresultat 35,3.

Wie man sieht, hält der Bastard sich etwa in der Mitte. Wir dürfen

---

[1]) Zu diesem Zweck wurden die Kerne bei 2417facher Vergrößerung gezeichnet und nachher mit dem mm-Maßstab ausgemessen. Mit Rücksicht darauf, daß manche Kerne etwas länglich sind, wurde ein maximaler und ein minimaler Durchmesser (*a* u. *b*) genommen. Die Oberflächenberechnung ergibt sich nach der Annäherungsformel für die Ellipse: $O = 2\pi b\,(a+b)$. Für Vergleichungen können wir uns, da es sich nicht um sehr genaue Werte handelt und die Ellipsoide sich der Kugelform sehr stark nähern, auf den Wert $a.b$ beschränken, der in den obigen Zahlen vorliegt. Bei sämtlichen Berechnungen der Kerngröße, auch in den folgenden Kapiteln, wurde selbstverständlich genau gleiche Vergrößerung und gleiche Berechnungsart angewendet.

[2]) Vgl. *Strong*-Kulturen in den Kapiteln *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ und *Strong* ♀ × *Arb* ♂.

damit in diesem Fall als bewiesen ansehen, daß in den Kernen des Pluteus *Sphaer* ♀ × *Ech* ♂ der volle Chromosomenbestand vorhanden ist.

Daß die Kombination *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ sich analog verhält, wird durch die Vergleichung der abgebildeten Kerne wahrscheinlich gemacht. In Fig. 2 *b* ist eine Anzahl Kerne aus der Scheitelregion eines Bastardpluteus *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ abgebildet. Sie sind etwas größer als die Kerne reiner *Strong*-Plutei (Fig. 4 *a*), dagegen kleiner als die Kerne der *Sphaer*-Larve (Fig. 2 *a*). Daß sie in ihrer Größe beträchtlich näher bei *Strong* und nicht zwischen beiden Eltern in der Mitte stehen, dürfen wir vielleicht mit der Annahme erklären, daß die *Sphaer*-Kontrollzucht in diesem Fall kleinere Kerne gehabt haben wird als der *Sphaer* von Fig. 2*a*. Diese Annahme wird dadurch gestützt, daß *Sphaer*-Zuchten mit solchen Kernen öfters beobachtet wurden.

Strong-Kultur. 21. XII.	*Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ 5. XII.
36,04	34,38
34,48	36,68
33,97	34,32
32,75	
Mittel: 34,31	34,6

In der vorstehenden Tabelle sind die Berechnungen für einige Bastardplutei *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ vereinigt. Um einen Vergleich zu ermöglichen, sind die Resultate einer *Strong*-Kultur, die im gleichen Monat angesetzt wurde, danebengestellt.

Worauf es mir ankommt, ist, zu zeigen, daß der Bastard keine wesentlich kleineren Kerne besitzt als die elterlichen Species, denn wir werden in der Kombination *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ zu einem ganz andern Resultat gelangen.

Aus den Zahlen dürfen wir den Schluß ziehen, daß die Kerne der Bastardplutei *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ in der Regel sämtliche 38 Chromosomen enthalten, worunter alle väterlichen sowie alle mütterlichen vertreten sind, daß demnach die Abkömmlinge aller Chromosomen, die wir in den ersten Furchungsteilungen nachweisen konnten, auch in die Kerne der Larven gelangen.

Ausnahmen. Das eben formulierte Resultat erleidet hier und da eine Einschränkung. Es kommt zuweilen vor, daß einzelne Chromosomen sich im Stadium der Äquatorialplatte zwar in Tochterchromosomen spalten, diese aber nicht imstande zu sein scheinen, sich voneinander zu lösen. Infolgedessen bleiben sie entweder im Äquator der Spindel

liegen oder sie gelangen als Doppelelemente in den Bereich der einen Sphäre. Textfig. II *a* gibt einen derartigen Fall. Die Spindel gehört

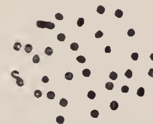


Textfig. II*a*.

Sphaer ♀ × *Strong* ♂. I. Furchungsspindel. II *a*. Von der Seite. Vergr. 1:1250. II *b*. Tochterchromosomen-Platten vom Pol aus gesehen. Vergr. 1:2220.

einem ungeteilten Ei an. Zur Färbung diente Schneidersches Essigkarmin. In der Mitte zwischen beiden Tochterplatten liegen außer einem einfachen Chromosoma vier Elemente, deren Doppelnatur nicht zu verkennen ist. Die Tochterplatten (Textfig. II *b*) enthalten 33 und 34 Chromosomen. Die Gesamtzahl beträgt also unter Einrechnung der Doppelelemente auch hier 38.





Textfig. II *b*.

In Textfig. III ist ein weiteres mit Heidenhains Hämatoxylin gefärbtes Stadium aus einer Schnittserie abgebildet. Die Chromosomen sind zu Bläschen geworden und zu einem einheitlichen Kern verschmolzen. Außerdem aber zieht von Kern zu Kern ein Chromatinstrang, den wir uns wohl aus solchen anormalen, ungeteilten Chromosomen entstanden denken dürfen.

In Textfig. IV endlich ist ein Zweizellen-Stadium mit ruhenden Kernen abgebildet. Auch hier sehen wir den schon

in voriger Figur beobachteten Chromatinstrang. Nur ist er hier infolge der Furchung durchgeschnürt und nach der Seite gedrängt worden.

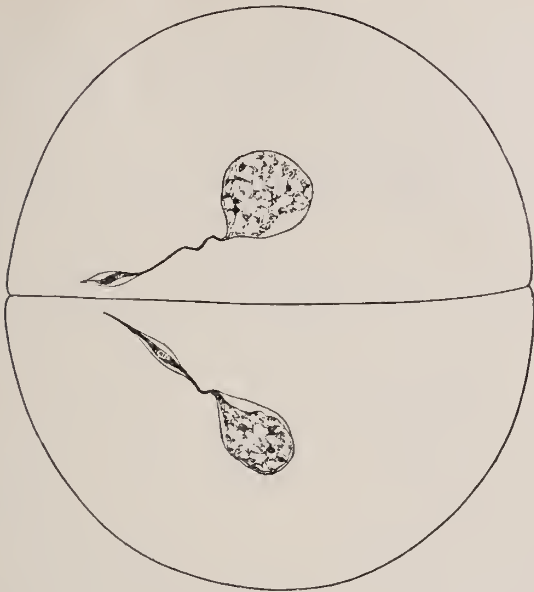
Diese Bilder lehren, daß unter Umständen bei den ersten Karyo-



Textfig. III.

Sphaer ♀ × *Strong* ♂. Spätes Stadium der ersten Furchungsmitose. Vergr. 1:2250.

kinesen der Bastardeier eine geringe Zahl von Elementen aus dem typischen karyokinetischen Vorgang eliminiert werden können. Wir werden sehen, daß in der reziproken Bastardkombination eine derartige Chromosomenelimination, nur dort in größerem Maßstab und durchaus regelmäßig vorkommt. Zu allen drei hier gegebenen Figuren werden wir Parallelen finden.



Textfig. IV.
Sphaer ♀ × *Strong* ♂. Zweizellen-Stadium. Eisenhämatoxylin nach Heidenhain. Vergr. 1:913.

Die Bedeutung dieser Ausnahmefälle für die Ausbildung der Charaktere, im besonderen der Skeletcharaktere des Pluteus wird im Zusammenhang mit den Beobachtungen an *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ erörtert werden.

B. Strong ♀ × Sphaer ♂.

1. Der Verlauf der Entwicklung. Nach der Befruchtung setzen die Furchungsteilungen, wie Driesch (1898) angibt, im Tempo der Mutterspecies oder mit sehr geringen Verspätungen ein. Vgl. dazu beistehende Tabelle (S. 515) von zwei Versuchsreihen.

Versuch A. 18. I. 09.

	Bastardkultur	Kontrollkultur *Strong*
Befruchtung	11 Uhr 35 Min.	11 Uhr 35 Min.
Eintritt I. Furche	1 » 25 »	1 » 25 »
» II. »	2 » 35 »	2 » 40 »
» III. »	4 »	3 » 55 »
16-Zellenstadium	5 » 40 »	5 » 30 »

Versuch B. 8. II. 09.

Befruchtung	12 Uhr 45 Min.	12 Uhr 45 Min.
Eintritt I. Furche	2 » 50 »	2 » 45 »
» II. »	4 » 05 »	3 » 55 »

Wenn auch die Furchungszeiten an sich mit denjenigen Drieschs nicht übereinstimmen, was zur Hauptsache wohl auf verschiedene Temperaturen zurückgeführt werden muß, so stimmen unsre Beobachtungen doch darin überein, daß Bastardkultur und Kontrollkultur annähernd gleiches Furchungstempo haben.

Im folgenden sind die Daten über den weiteren Verlauf einiger Versuche zusammengestellt. Es sind die nämlichen wie in voriger Tabelle.

Versuch A.

Bastardkultur		Datum		Kontrollkultur *Strong*
Befruchtung . . .	11 Uhr 35 Min.[1]	18. I.	11 Uhr 35 Min.	Befruchtung
Blastulae krank . .	11 Uhr abends	19. I.		
do. . .	11 Uhr	20. I.	11 Uhr	Gastrulae
do. . .	11 »	21. I.	11 »	Gastrulae, einzelne »Prismen«
Gastrulae und Blastulae, alle krank, mit Skeletdreistrahlern	4 Uhr	22. I.		
Ebenso, Gastrulae mit größeren Skeletstücken . .	11 »	23. I.		Plutei
Unter zahlreichen Gastrulis und Blastulis ein Pluteus		27. I.		

Versuch B.

Befruchtung . . .	12 Uhr 45 Min.	8. II.	12 Uhr 45 Min.	Befruchtung
Die Blastulae füllen sich mit kranken Zellen	8 Uhr 30 Min.	9. II.	12 Uhr 30 Min.	Blastulae aus der Eimembran eben befreit, fangen an zu schwimmen
Blastulae fangen an zu schwimmen .	7 Uhr abends	9. II.	3 Uhr	Einwanderung des Mesenchyms
		13. II.		Plutei
Einige pluteusähnliche Larven . .		20. II.		

[1]) Die Stundenangaben ohne besonderen Vermerk beziehen sich auf die Taghälfte von 6 Uhr morgens bis 6 Uhr abends. Dies gilt für die vorliegende, wie für alle ähnlichen Tabellen.

Die Zusammenstellung lehrt, was sich bei jedem weiteren Versuch wiederholte, daß innerhalb der ersten 24 Stunden eine Erkrankung des Keimes eintritt. Mit den Ergebnissen von DRIESCH (1898) verglichen, fällt die langsamere Entwicklung der reinen *Strong*-Kultur auf. DRIESCH hat schon am 3. Tage Plutei, ich erst am 4. und 5. Tag. In einem und zwar dem wesentlichen Punkt aber stimmen unsre Beobachtungen vollständig überein: Auch die Bastarde von DRIESCH erkrankten innerhalb des ersten Tages.

Das Krankheitsbild ist folgendes: Sowie sich die Anfänge des Blastocoels bilden, in der 13.—20. Stunde nach der Befruchtung, gelangen



Textfig. V und VI.
Strong ♀ × *Sphaer* ♂. Vergr. 1:415.

zahlreiche Zellen in das Lumen. Die Keime stecken zu dieser Zeit noch in der Dotterhaut. Das Mesenchym bildet sich erst viel später, in der Kontrollkultur unsres Versuchs B 26 Std., bei den Versuchen DRIESCHS 23—24 Std. nach der Befruchtung. Zu der Mesenchymzellenbildung kann daher die beschriebene Zelleneinwanderung keine Beziehung haben.

Je größer das Lumen der Blastulahöhle wird, desto dichter füllt es sich auch mit Zellhaufen. Die Larve wird trüb, undurchsichtig. Zahlreiche Keime liegen am Boden. In allen Individuen, auch den rotierenden, zeigt sich, wenn auch in verschieden hohem Grade, diese charakteristische Anfüllung des Blastocoels mit Haufen kranker Zellen. In Textfig. V und VI sind zwei nach dem lebenden Objekt gezeichnete Keime abgebildet. Fig. V ist ein frühes Stadium, 12 Std. nach der Befruchtung. Der Keim steckt noch in der Dottermembran; die Blastulahöhle ist noch klein, die Wandung noch dick. Die Zellhaufen im Innern er-

scheinen zum Teil als große Blasen. zum Teil als granulöses Gerinnsel. Fig. VI zeigt ein 25 Std. altes Stadium, ebenfalls noch vor Befreiung aus der Dotterhaut. In der Wandung sieht man einzelne enorm vergrößerte Blasen. Bei Färbung mit SCHNEIDERschem Essigkarmin stellt sich heraus, daß die großen, vacuolenartige Gebilde des lebenden Objekts riesige Kernblasen sind, bald mit granulösem, feinverteiltem chromatischem Inhalt, bald mit einzelnen Chromatinbrocken.

Wie aus den in der Tabelle mitgeteilten Protokollnotizen zu ersehen ist, dauert dieses Krankheitsstadium mehrere Tage. Die Entwicklung sistiert. Die Kontrollkultur erreicht während dieser Zeit das Pluteusstadium. Es gibt zuweilen auch Fälle, in denen die Krankheitsperiode rascher durchgemacht wird, und die weiteren Entwicklungsschritte weniger stark, etwa 1 Tag, hinter den entsprechenden der Kontrollkultur nachhinken. Viele Bastardlarven gelangen in ihrer Entwicklung überhaupt nicht weiter; sie sterben als Stereoblastulae. Bei andern aber wird die Krankheit überstanden; die Keime gastrulieren; sie legen Skelet an, Dreistrahler, allerdings oft in anormal großer Zahl. Die Kerne der Wandung haben nach der Krankheitsperiode ein gesundes Aussehen, was in gewissem Maße auch von denjenigen Larven gilt, die auf dem Blastula- oder Gastrulastadium stehen bleiben.

Nur die wenigsten Larven entwickeln sich bis zum Pluteus.

In der Literatur wird nur von wenigen Autoren über die Entwicklung dieses Bastards berichtet.

DRIESCH (1898, S. 75) fand 24 Std. nach der Befruchtung keine gesunden Keime mehr. Nach seiner Angabe sind »alle krank und am Boden«. VERNON (1900, S. 474) berichtet von den Larven seiner Frühsommerkulturen: "They developed only to the blastula or gastrula stage, and then died off. In July and August, on the other hand, a considerable percentage of the hybrid plutei resulted".

2. Der Pluteus. Fig. 3 (Taf. XXV) stellt einen ausgewachsenen Bastardpluteus dar. Der Keim war 7 Tage alt und hatte das Pluteusstadium seit 2 oder 3 Tagen erreicht. Die Zeichnung wurde nach dem durch Formolzusatz unbeweglich gemachten Tier angefertigt. Wir haben die Skeletcharaktere für die Plutei der beiden Species *Strong* und *Sphaer* schon in einem früheren Abschnitt (S. 507) angegeben. Das Skelet des abgebildeten Bastards stimmt in allen Teilen mit dem *Strong*-Skelet überein: Die Scheitelstäbe sind typisch keulenförmig. Die Analstäbe sind einfach. Die Oralstäbe tragen keinen nach dem Scheitel hinziehenden Ast.

Im folgenden sind Mitteilungen über eine Reihe von Plutei gemacht.

Zum Teil beziehen sie sich auf Zeichnungen nach dem lebenden Objekt, zum Teil auf Angaben der Versuchsprotokolle. Ich führe die Resultate zweier Kulturen, deren eine in Tabelle S. 506 als Versuch C kurz berührt wurde, im einzelnen auf.

Versuch vom 11. III. 09.

14 Plutei von bald schlanker, bald bauchiger oder breit pyramidaler Form, mit typischem *Strong*-Skelet, gut ausgebildeten keulenförmigen Scheitelstäben und einfachen Analstäben.

4 Plutei, ebenfalls von wechselnder Form; mit *Strong*-Skelet, in einzelnen Teilen aber defekt. Bei dem einen ist der Analstab der einen Seite nicht entwickelt. Bei den drei andern hat das Skelet der einen Seite die Form eines einfachen ungegliederten Stabes.

1 Pluteus von bauchiger Form mit kaum ausgebildeten Armen, aber mit wohl entwickelten Scheitelkeulen. Der Analstab der einen Seite ist einfach. Auf der andern Seite ist ein am Ende gegabelter Analstab ausgebildet.

1 Pluteus von bauchiger Form mit gut entwickelten Armen. Auf der einen Seite sind zwei Analstäbe ausgebildet. Der Scheitelstab ist typisch keulenförmig. Auf der andern Seite ist nur ein Analstab vorhanden. Der Scheitelstab dieser Seite ist einfach, unverzweigt, aber nicht keulig verdickt.

1 Pluteus, auf der einen Seite mit einer Keule und zwei Analstäben, auf der andern mit einem unregelmäßigen Scheitelstab und einem einfachen Analstab.

Alle in diesem Versuch beschriebenen Plutei wurden am 5. und 6. Tag, nachdem die typische Form erreicht war, untersucht.

Versuch vom 28. III. 09.

3 Plutei von schlanker oder bauchiger Form mit typischem *Strong*-Skelet.

2 Plutei mit *Strong*-Skelet. Die Scheitelstäbe jedoch nicht keulenförmig angeschwollen, sondern einfach stabförmig.

1 Pluteus mit einfachen, aber nicht keuligen Scheitelstäben. Der Analarm der einen Seite enthält einen einfachen langen Analstab; auf der andern Seite zwei ganz kurze zackenförmige Analstäbe.

Die Plutei dieses Versuchs wurden am 7. Tag nach der Befruchtung untersucht. Die Kontrollkultur *Strong* lieferte neben typisch ausgebildeten auch einen größeren Prozentsatz von nicht ganz normalen Larven. Die Analarme waren öfters nicht ausgebildet.

Von den übrigen Versuchen lieferten sechs einige wenige Plutei. Diese Larven waren zur Zeit der Untersuchung mindestens 7, einige auch 9 Tage alt. Das Gesamtresultat ist folgendes:

4 Plutei mit entwickelten Analarmen und typischem *Strong*-Skelet. Darunter der Pluteus von Fig. 3.

1 Pluteus mit typischem, aber nur auf der einen Seite entwickeltem *Strong*-Skelet.

5 Plutei mit kaum oder gar nicht entwickelten Analarmen, ohne oder mit nur ganz kurzen Analstäben, dagegen gut entwickelten Keulen.

1 Pluteus mit gut entwickelten einfachen Analstäben und einfachen, nicht keuligen Scheitelstäben.

Aus allen Versuchsreihen zusammen ergibt sich, daß von 38 untersuchten Plutei von mehr oder weniger ausgebildeter Form im Skelet 34 reine *Strongylocentrotus*-Charaktere tragen. Hierbei sind auch diejenigen eingerechnet, deren Skelet nicht völlig ausgebildet war, in allen vorhandenen Teilen jedoch reine *Strong*-Merkmale zur Schau trug. Bei vier Larven ist im Skelet vereinzelt ein Charakteristikum vorhanden, welches als Annäherung an den Charakter des Vaters, *Sphaer*, angesprochen werden könnte: doppelte Analstäbe. Jedoch kommen solche auch bei reinen *Strong*-Kulturen vor. Man vergleiche dafür Steinbrücks Abbildungen (1902, Fig. 16—25), ferner auch Vernon (1898, S. 476) und Doncaster (1903, S. 125). Wir dürfen aus diesem Grunde und in Anbetracht, daß auch die abweichenden Bastardlarven im übrigen Skelet völlig mütterlich sind, die Verdoppelungen der Analstäbe in diesen vier Fällen als abweichende *Strong*-Formen und nicht als *Sphaer*-Merkmale ansehen.

Resultat: Das Skelet der Bastardplutei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ trägt rein mütterlichen Charakter.

Die Körperform der Plutei ist stark variabel. Oft sind die Bastardlarven so schlank wie die typischen *Strong*-Kontrollplutei, oft so bauchig wie die Plutei reiner *Sphaer*-Kulturen. Diese geringe Regelmäßigkeit steht ohne Zweifel in Zusammenhang mit der pathologischen Entwicklung. Ich habe oft erkrankte, ballonartig aufgetriebene Keime auch bei reinen Kulturen gesehen. Ähnliche Beobachtungen hat Boveri an Monasterlarven (1907, S. 57) gemacht. Aus diesem Grunde habe ich auch die Ergebnisse über die Form nicht zu irgendwelchen Schlüssen auf den Einfluß der beiden Elternspecies bei der Vererbung benutzt.

Über die Pigmentierung habe ich keine Untersuchungen angestellt.

In der Literatur sind die Angaben über das Skelet der Bastardplutei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ ziemlich gering, infolge der Schwierigkeiten, welche der Gewinnung dieser Larven im Wege stehen.

Die früheste Notiz hat MORGAN (1895) veröffentlicht: »In general the skeleton of this cross resembles more that of *Strongylocentrotus*, but the anal arms have a most variable number of rods in them." "Rarely one anal arm-rod is present, often two, and most often three, and generally no cross-pieces are present and no posterior branch from the oral arms" (S. 277). Diesem Befund stehen die Beobachtungen von VERNON, FISCHEL und DONCASTER gegenüber.

Bei den Angaben VERNONS beziehe ich mich nur auf die Formen des Skelets, nicht aber auf die Längenverhältnisse, auf die der Autor hauptsächlich seine Untersuchung gründet. Daß diese Basis anfechtbar ist, weil die Proportionen variabel sind, haben schon STEINBRÜCK (1902, S. 6) und DONCASTER (1903, S. 130) betont.

Ich gebe aus der eingehenden Beschreibung VERNONS folgendes wieder:

Scheitelstäbe: "There was a tendency for the lower club-shaped end of the body skeleton, to branch and split up, but this was very much less frequent and less marked than in the reciprocally crossed hybrids" (S. 476).

Analstäbe: "a somewhat larger proportion of the hybrids exhibited a short second anal arm skeleton than is the case with the pure *Strongylocentrotus* larvae, but this characteristic was not marked or present in the majority of larvae as with the reciprocal hybrids" (ibid.).

VERNONS allgemeiner Schluß ist: "It would be quite impossible, however, to diagnose hybrids from pure *Strongylocentrotus* larvae by means of this characteristic, as there is a considerable amount of variation in this respect even in these latter" (S. 476).

Ein von VERNON abgebildeter Pluteus zeigt keulenförmige Scheitelstäbe und in den Analarmen lange einfache Analstäbe, wozu auf der einen Seite noch eine ganz kurze zweite Zacke kommt.

FISCHEL (1906) bringt für unser Objekt nur wenige Angaben. »Bei den mit *Echinus brevispinosus*[1])-Samen befruchteten *Strongylocentrotus*-Eiern entwickelten sich Scheitelstäbe (Fig. 14) mit zahlreicheren und längeren seitlichen Dornen als bei reinen *Strongylocentrotus*-Larven.« (S. 513.) Diese Fig. 14 FISCHELS zeigt einen 5 Tage alten Pluteus mit einfachen Analstäben und mit schwach verdickten Scheitelstäben. Die an diesen sitzenden Dornen sind allerdings nur wenig größer als diejenigen, mit welchen die Scheitelstäbe der reinen *Strong*-Plutei in FISCHELS Arbeit (Fig. 3 u. 4) ausgestattet sind. Jedenfalls ist auch hier

[1]) Synon. für *Sphaer.*

der Bastardpluteus in seinem Skelet dem Pluteus der Mutterspecies sehr ähnlich.

Von Doncaster ist eine kurze Angabe zu erwähnen. Die Bastardplutei, sagt dieser Autor, seien "more like *Strongylocentrotus* in the skeleton" (1903, S. 137).

Mit Ausnahme Morgans stimmen diese Autoren in ihren Beobachtungen mit meinen Darlegungen gut überein. Wir sind zu der Annahme berechtigt, daß in der Regel der Bastard *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ in seinem Skelet rein mütterliche Charaktere und mehr als Ausnahme (Morgan) auch Eigenschaften zeigt, welche auf Einflüsse der väterlichen Species zurückgeführt werden müssen.

Die Kerngröße der Bastardplutei. In Fig. 4 *a* (Taf. XXV) sind eine Anzahl Kerne aus dem Scheitel eines reinen *Strong* ♀-Pluteus, in Fig. 4 *b* dasselbe aus dem Scheitel eines Pluteus *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ abgebildet. Für beide Kulturen wurde Eimaterial desselben Tieres benutzt. Die Vergrößerung ist für beide Bilder gleich: 1/2417. Der *Strong*-Pluteus war 8 Tage alt und hatte das Pluteusstadium seit 4 Tagen erreicht. Der Bastard war 9 Tage alt, im Pluteusstadium seit 3 oder 4 Tagen. Er besaß wohlentwickelte Arme. Nach alledem befinden sich die beiden Larven in entsprechendem Stadium. Der Vergleich der Kerngröße ergibt sofort, daß die Kerne des Bastards bedeutend kleiner sind als diejenigen des Pluteus aus der *Strong*-Kontrollkultur.

Beistehende Tabelle liefert für vier Larven nähere Zahlenangaben. Auch hier wurde darauf geachtet, genau entsprechende Stadien zu vergleichen. Die Plutei der Kontrollkultur sind 8, diejenigen der Bastardkultur sind 9 Tage alt. Die Larven können somit als sicher ausgewachsen gelten. Alle sind in ihrer Form typische Plutei. Auszunehmen ist nur Bastard Nr. 4, der auf dem Gastrulastadium stehen geblieben ist. Er zeigt jedoch, ebenso wie die ausgebildeten Plutei, kleine Kerne.

Nr.	Bastard *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂	Kontrollkultur *Strong*
1	23,05	36,0
2	22,95	34,48
3	22,11	33,97
4	23,7	32,75
	Mittel: 22,95	34,31

Die Zahlen der Tabelle beziehen sich auf Zeichnungen in 2417facher Vergrößerung und sind Vergleichszahlen für die Kernoberflächen. Über

die Art ihrer Berechnung wurde schon bei früherer Gelegenheit berichtet (S. 511). Abgeplattete Kerne, die übrigens nur selten vorkamen, wurden von der Messung ausgeschlossen.

Die Oberflächen der Kerne in der Scheitelpartie verhalten sich also bei der reinen *Strong*- und der Bastardkultur wie 34,31 : 22,95. Dieses Ergebnis stützt sich auf Material, welches in Osmiumsäure konserviert und in Pikro-Magnesiumkarmin gefärbt worden war. Aus Zeichnungen, welche ich bei schwächerer Vergrößerung[1]) (1/1250) an Essigkarminpräparaten herstellte, ließ sich die Proportion 36 : 20,4 berechnen[2]). Die Verwendung des SCHNEIDERschen Essigkarmins gibt wohl in Hinsicht auf genaue Kernmessungen infolge starker Quellung nicht so genaue Resultate wie die Fixierung mit Osmiumsäure. Auch verbürgt die nur halb so starke Vergrößerung nur geringere Genauigkeit. Unter diesen Umständen darf die Übereinstimmung der beiden Ergebnisse als genügend betrachtet werden.

Die Zahl der Chromosomen bei *Strong* beträgt 36. Rechnen wir unsere Proportion 34,31 : 22,95 auf 36 um, so ergibt sich fast genau 36 : 24. Dies bedeutet, wie wir in der Einleitung erörtert haben, nach der BOVERIschen Proportion (1905), daß in den Kernen der Bastardplutei nur etwa 24 Chromosomen enthalten sind.

Auch an den Kernen der Wimperschnur wurden Messungen angestellt, wobei variierende Resultate herauskamen, im Durchschnitt, wie oben auf 36 umgerechnet, 26. Die Kerne der Wimperschnur sind infolge der engen Lagerung sehr oft ellipsoidisch, dies natürlich in der Kontrollkultur in höherem Maße, weil die Kerne hier größer sind als in der Bastardzucht. Zuweilen sind sogar die Kerne der Bastardzucht fast alle kugelig, in der Kontrolle dagegen stark länglich. Damit ist klar, daß die Kerne der Wimperschnur für solche Kernmessungen wenig geeignet sind; es wird, je nachdem sie sich mit der Schmal- oder Längsseite dem Auge darbieten, ein verschiedener Wert herauskommen. Im allgemeinen wird die Differenz in der Kerngröße zu gering erscheinen, wie es bei dem Durchschnittsresultat 36 : 26 auch der Fall ist.

3. Das Verhalten der Chromosomen während der ersten Furchungen. Die Erklärung der in den bisherigen Abschnitten beschriebenen Abweichungen vom normalen Entwicklungsverlauf wird durch Erscheinungen in den ersten Furchungsmitosen gegeben.

---

[1]) ZEISS Comp. Oc. 6. Apochr. 2,0, Tubus eingeschoben.

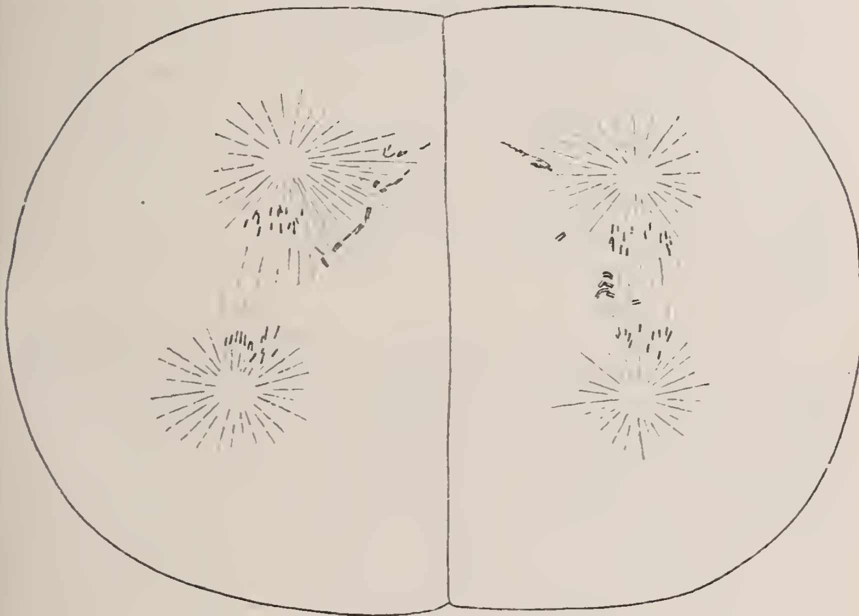
[2]) Vgl. BALTZER (1909 *b*).

Nachdem die Eier befruchtet worden sind, setzen die Vorbereitungen zur ersten Teilung ein. Es scheint vorzukommen, daß der Spermakern mit seinem Centrosom einige Zeit untätig bleiben kann und dadurch die cellulären Vorgänge sich verspätet abwickeln. So fanden sich manchmal noch $1\frac{1}{2}$ Stunden nach der Befruchtung unaufgelöste Furchungskerne, allerdings schon stark vergrößert, während bei reinen *Strong*-Kulturen schon nach Verlauf einer Stunde das Äquatorialplattenstadium erreicht wird. In der Regel haben aber, wie schon oben berichtet wurde, die Furchungsteilungen der Bastardeier in den meisten Zuchten ungefähr dieselben Zeiten wie die Eier der Kontrollkulturen eingehalten. Nach allen Beobachtungen kommt es schließlich immer zu einer Verschmelzung der beiden Vorkerne.

Bis zur Spaltung der Chromosomen geht der Teilungsprozeß bei den Bastarden in der typischen Weise vor sich; dann tritt ein abweichendes Verhalten zutage. Die einen Chromosomen spalten sich und bilden die Tochterplatten, welche während der Metaphase auseinanderrücken. Die andern bilden auch Tochterchromosomen, welche sich aber nicht voneinander lösen. Da nun jede Sphäre eines der Segmente an sich heranzubringen sucht, bleibt das Doppelchromosoma der Regel nach im mittleren Bereich der Spindel liegen. Fig. 25 *a* und *b* (Taf. XXVIII) illustriert diesen Vorgang; die zwei Teilbilder *a* und *b* entsprechen den zwei Schnitten, auf die sich die Chromosomen verteilen. Man kann auf den Bildern oft die aneinander klebenden Spalthälften der zwischen den Tochterplatten liegen gebliebenen Chromosomen erkennen. Ein Folgestadium ist in Fig. 26 abgebildet. Die Chromosomen in den Tochterplatten sind zu Bläschen geworden: die ungeteilten, anormalen haben ihre Stäbchenform verloren und liegen als verzerrte, in die Länge gezogene Chromatinklumpen zwischen den beiden typischen Platten. Bei der Durchschnürung des Protoplasmas gelangen diese oft zu Strängen in die Länge gezogenen Klumpen in die Tochterzellen: in welcher Mengenverteilung, ist allem Anschein nach dem Zufall überlassen. Häufig gehen auch diese ungeteilten Chromosomen in die Form von Kernbläschen über. Sie können jedoch gelegentlich auch kompakt, chromosomenähnlich bleiben. Endlich kommt es nicht selten vor, daß sie sich vor der Durchschnürung des Plasmas mit dem Kern der normalen Chromosomen teilweise oder völlig vereinigen. Diese Variante schien in einer Zucht sogar die Regel zu sein.

Die Bildung der neuen Spindeln in den Tochterzellen geht in der gewöhnlichen Weise vor sich: Aus den Tochterkernen gehen wieder die Chromosomen hervor. Aber auch die Kernbläschen, in denen die ungeteilten Doppelelemente aufgingen, können sich wieder zu Chromosomen umbilden, von gleicher Dicke wie die Elemente der regulären Tochter-

kerne. Sie haben offenbar ihren Entwicklungscyclus fortgesetzt, obgleich sie während der ersten Furchungsmitose nicht imstande gewesen sind, sich zu spalten. Da die Verteilung der ungeteilten Doppelelemente auf die beiden $^1/_2$-Blastomeren je nach der Lagerung in der Spindel des ungeteilten Eies (Fig. 25 u. 26) unregelmäßig war, kann die Anzahl der jetzt aus den Tochterkernen sich entwickelnden Elemente ganz verschieden sein. Die Spindeln des Zweizellen-Stadiums können in der Pro-



Textfig. VII.
Strong ♀ × *Sphaer* ♂. Zweizellen-Stadium. Essigkarmin. Vergr. 1 : 830.

phase einen ganz verschiedenen Chromosomenbestand haben. Fig. 27 zeigt die Tochterspindeln mit Äquatorialplatten. Dieselbe Erscheinung wie bei der ersten Teilung wiederholt sich: Eine Anzahl von Chromosomen spaltet sich in typischer Weise, wie es die rechte Spindel zeigt; in der Spindel links hat die Spaltung noch nicht begonnen. Außer diesen in der Spaltung begriffenen, normalen Elementen, welche eine richtige, in der Spindelachse liegende Platte bilden, liegen in jeder Teilungsfigur an der nach der ersten Furche zugewandten Seite eine Anzahl unregelmäßig gelagerter Chromosomen. Die rechte Spindel zeigt deutlich, was diese Elemente von den andern unterscheidet: sie spalten sich nicht. Teilweise liegen sie, wie in der Spindel links nur im Bereich der einen Sphäre. Mit

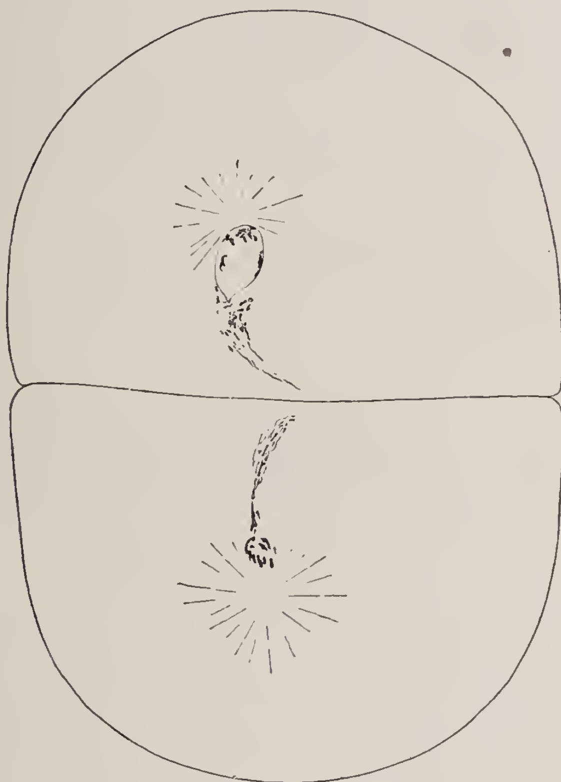
vorschreitender Metaphase — in Textfig. VII dargestellt — wird der Unterschied noch klarer: Wiederum rücken, genau dem Bild Fig. 25 entsprechend, die Platten der normalen Tochterchromosomen auseinander, während die übrigen, ungeteilten in der Mitte der Spindel oder im Bereich der einen Sphäre liegen bleiben. Es kommen auf diese Weise Bilder zustande, die einerseits an Monaster, andererseits an typische zweipolige Spindeln erinnern (Fig. 27, Taf. XXVIII und Textfig. VII).

Charakteristisch ist die seitliche Lagerung der Chromosomen gegen die Berührungsfläche der Zellen. Sie hat ihre Ursache in den Lagerungsverhältnissen bei der ersten Teilung. Ich habe schon hervorgehoben, daß die sich nicht teilenden Elemente zwischen den Platten der normalen Chromosomen liegen bleiben. Wenn sich einige noch als Bläschen mit den regulären Tochterkernen vereinigen, so sind sie doch immer Nachzügler und liegen der ersten Furche am nächsten. Oft bilden sie sogar lappenartige Ausbuchtungen des Tochterkerns, welche der Natur ihrer Entstehung zufolge ebenfalls nach der ersten Furche zu orientiert sind (vgl. Textfig. X, S. 545).

Diese Lagerung bleibt ungefähr auch während der Kernruhe und während der Entstehung der Tochterspindeln bestehen. Sie ist damit auch für die Äquatorialplatten gegeben. Die Chromosomen, welche sich während der ersten Karyokinese nicht gespalten haben, werden bei der zweiten Furchungsteilung stets in dem der I. Furche benachbarten Bereich der Spindel liegen. Dies trifft in der Tat zu und damit ist — wenn auch nicht für jedes Chromosoma im einzelnen, so doch im ganzen der Nachweis geführt, daß die nämlichen Elemente, welche in der ersten Karyokinese ungeteilt blieben, auch in der zweiten Teilung die Trennung in Tochterchromosomen nicht durchführen können.

Noch ein zweiter Faktor kommt in Betracht, besonders zur Erklärung für die einseitige Lagerung der Chromosomen und, was damit zusammen hängt, für die eigentümliche Abdrängung der Chromatinstränge nach dem Rand des Protoplasmas, wie sie für alle Fälle mit Elimination bei verschiedener Fixierung sehr charakteristisch ist. Nach Durchschnürung der ersten Furche legen sich die beiden Blastomeren, welche während der Zellteilung Kugelform hatten, wieder dicht aneinander. Bei der dabei eintretenden gegenseitigen Abplattung wird das Plasma und mit ihm die darin liegenden Doppelchromosomen oder Chromatinstränge von der Mitte nach dem Eirand hin abgedrängt und damit Verlagerungen des Chromatins, wie sie hier (Textfig. IV, VIII) abgebildet sind, hervorgerufen. Bei Ausbildung der Tochterspindeln werden die Chromosomen mehr oder weniger nur in den Bereich der zunächst benachbarten Sphäre gelangen (Textfig. VII).

In der zweiten Furchungsmitose ist der Unterschied zwischen dem Schicksal der normalen und der anormalen Elemente schärfer geworden. Während bei der ersten Karyokinese wenigstens eine Anzahl der anormalen ungeteilten Chromosomen noch mit den normalen zu einem einheitlichen Kern verschmelzen konnte, findet dies bei der zweiten Teilung nicht



Textfig. VIII.
Strong ♀ × *Sphaer* ♂. Zweizellen-Stadium. Essigkarmin. Vergr. 1 : 830.

mehr statt. Die anormalen Chromosomen bleiben oft, allem Anschein nach ganz unbeeinflußt von den Sphären, im Bereich der Spindel liegen. Die Mitose der rechten Blastomere in Textfig. VII ist dafür instruktiv. Die Stellung der im Äquator liegen gebliebenen, zu einer Gruppe vereinigten eliminierten Chromosomenpaare läßt erkennen, daß dieselben während der ganzen Mitose liegen geblieben sind. Sie entspricht der Stellung der eliminierten Chromosomen eines früheren Stadiums, wie es in der rechten Spindel von Fig. 27 abgebildet ist.

Daß eine Wirkung der Sphären jedoch häufig noch stattfindet, geht aus andern Bildern hervor. Wir finden sehr oft, daß die Radien der Strahlungen zu den anormalen Chromosomen in gleicher Weise herantreten wie zu den normalen. Ferner sehen wir die anormalen Chromosomen oft eine Stellung einnehmen, welche der für Monaster charakteristischen und auf Sphärenwirkung zurückzuführenden ganz ähnlich ist: Sie stehen, wie es die linke Spindel der Textfig. VII und der Tafelfig. 27 zeigt, alle in gleichem Abstand vom Centrum der Strahlung. Man wird an die Bilder erinnert, die von M. Boveri (1903) und mir (1908) gegeben wurden.

Trotz dieser Varianten führt die zweite Furchungsteilung fast ohne Ausnahme zum gleichen Resultat: Zur vollständigen Elimination der anormalen Chromosomen aus dem regulären Verlauf der Karyokinese. Dieselben verschmelzen mit den normalen Elementen nicht mehr zu einheitlichen Kernen. Der weitere Fortgang der zweiten Teilung gibt dafür weitere Belege. In Fig. 28 sind die Chromosomen der Tochterplatten zu Bläschen geworden und diese zum Teil auch schon zu größeren Bläschen verschmolzen.

Die ungeteilten Doppelelemente liegen als einzelne Paare — in Fig. 28 ist ein derartiges vorhanden — oder als unregelmäßige, kernähnliche Blasen im Protoplasma. Zum Teil liegen sie nahe der ersten Furche. In diesem Fall — in Fig. 28 ebenfalls enthalten — wird es sich um Elemente handeln, die schon bei der ersten Teilung aus dem karyokinetischen Vorgang eliminiert wurden.

Aus den Chromosomen restituieren sich die Tochterkerne. Die zweite Furche schnürt durch. Fig. 29 stellt ein frühes Vierzellen-Stadium dar. Jede Blastomere enthält einen Kern und in verschiedenen Mengen die Klumpen der eliminierten Chromosomen. Hierher gehört auch Fig. 2 meiner vorläufigen Mitteilung (1909 *b*), wo die Mengen eliminierten Chromatins in den vier Blastomeren noch verschiedener sind.

Das Schlußergebnis der Beobachtungen können wir somit folgendermaßen formulieren: In den Bastardeiern *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ befinden sich unter den Chromosomen eine Anzahl von Elementen, die während der ersten zwei Karyokinesen aus dem normalen Teilungsvorgang des Kernes ausgeschieden werden und im Protoplasma liegen bleiben. Die nächste Ursache für diesen Vorgang, den wir als Elimination[1]) bezeichnen wollen, ist darin

[1]) Es sei hier bemerkt, daß wir im Verlauf dieser Arbeit nicht nur die eben beschriebene Ausschaltung von Chromosomen aus dem regulären Vorgang der Mitose, sondern auch die Ausschaltung von Chromatin aus dem typischen Verband des Kernes überhaupt als Elimination bezeichnen werden, gleichgültig, wie sie vor sich geht.

zu sehen, daß sich die Tochterchromosomen, in welche sich diese Elemente spalten, nicht voneinander lösen können.

4. Die Zahl der eliminierten Chromosomen. Aus dem Mitgeteilten geht hervor, daß wir die Zahl der eliminierten Chromosomen in den Spindeln des Zwei-, sicherer aber noch in den Spindeln des Vierzellen-Stadiums bestimmen können durch Zählung der Chromosomen in den Tochterplatten. In Fig. 30 (Taf. XXVIII) ist die Polansicht einer Tochterplatte aus einer in später Metaphase stehenden Spindel eines Zweizellen-Stadiums gegeben. Die Platte besteht aus 22 Elementen.

Im folgenden sind die weiteren Zählungsergebnisse zusammengestellt:

Zweizellen-Stadium. Ergebnisse von 41 Tochterplatten aus 21 Keimen:

1 Platte	mit	19	Chromosomen
12 Platten	»	20	»
10 »	»	21	»
11 »	»	22	»
3 »	»	23	»
4 »	»	24	»
Durchschnitt:		21,4	Chromosomen.

Vierzellen-Stadium. Ergebnisse von 20 Platten aus 10 Keimen:

1 Platte	mit	19	Elementen
4 Platten	»	20	»
11 »	»	21	»
3 »	»	22	»
1 Platte	»	24	»
Durchschnitt:		21,0	Chromosomen.

Ältere Stadien. Untersucht wurden Tochterplatten und Äquatorialplatten aus Morulis, 8 Stunden nach der Befruchtung, und jungen, höchstens 18 Stunden alten Blastulis. Die Zählung ist hier recht schwierig und unsicher. Das beste Resultat gaben stark gepreßte Essigkarminpräparate. Durch die Pressung wurden die Chromosomen günstig orientierter Platten etwas auseinander getrieben und dadurch die Zählung erleichtert. Im ganzen wurden elf Platten aus neun Keimen gezählt, worunter:

4 Platten	mit	20	Chromosomen
3 »	»	21	»
3 »	»	22	»
1 Platte	»	23	»
Durchschnitt:		21,1	Chromosomen.

Außerdem ist in Fig. 31 (Taf. XXVIII) eine Äquatorialplatte mit 24 Elementen aus einem $10^1/_2$ Std. alten Keim abgebildet. Das Präparat gehört zu einer mit HEIDENHAINS Hämatoxylin gefärbten Schnittserie.

An späteren Stadien, fertigen Blastulis, gelang mir nur eine Zählung von etwelcher Sicherheit. Es ist die in Fig. 7 (Taf. XXVI) enthaltene Äquatorialplatte mit 21 Chromosomen.

Alle diese Zählungen erstrecken sich auf 14 Zuchten. Ich habe niemals eine Bastardzucht ohne Elimination gesehen.

Wie in dem vorhergehenden Kapitel dargelegt wurde, finden wir bei Kombination *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂, wo keine Elimination stattfindet, 38 Chromosomen. Da wir im vorliegenden Bastard nach der Elimination nur noch 21, eventuell 22 Elemente finden, werden 17 oder 16 Chromosomen eliminiert.

Die Schwankungen in den Zählungsresultaten können wir aus zwei Ursachen herleiten. Erstens aus Fehlern in der Zählung selbst (vgl. das auf S. 505 Gesagte). Zweitens aus Schwankungen in der Elimination. Es dürften wohl beide Momente ihren Anteil an der Variabilität des Resultats haben. Ungeachtet dessen tritt die Tatsache klar hervor, daß die Elimination in ganz geregeltem Rahmen verläuft, so daß es sich wohl verlohnt, ihren Ursachen und Folgen eingehender nachzugehen.

5. Das weitere Schicksal des eliminierten Chromatins. Es unterliegt jedenfalls einer bedeutenden Vermehrung, denn in Morula- und jungen Blastulastadien finden sich oft außerordentlich große Chromatinansammlungen in Form großer Kernblasen oder — was gerade beweist, daß der Umwandlungs- und Vermehrungsprozeß trotz der Elimination nicht aufhört — als Haufen zahlreicher Stäbchen. Wenn sie im Bereich einer Sphäre liegen, werden sie manchmal in den karyokinetischen Prozeß hineingezogen. Wir sehen, daß, wie in den früheren Furchungsstadien, Radien an die Stäbchenhaufen herantreten, so in Fig. 5, welche eine Mitose aus einem etwa 10 Std. alten Keim darstellt. Zuweilen sehen wir diese Stäbchenhaufen auch zwischen den Tochterplatten normaler Spindeln liegen. Um welche Chromatinmassen es sich dabei handelt, ist aus Fig. 6 (Taf. XXVI) eines 11 Std. alten Keimes zu ersehen. Die Spindel zeigt die typischen Chromosomentochterplatten, dazwischen und auf der Seite gegen die Zellgrenze zu aber noch eine Unzahl von Chromosomenstäbchen, weit mehr, als einer typischen Mitose zukommt.

Man muß bei der Häufigkeit dieser Zustände wohl annehmen, daß das eliminierte Chromatin seine Entwicklung, seine Umwandlung in Stäbchen, dann in Blasen und daraus wieder in Stäbchen, mit einiger Regelmäßigkeit bis zum Blastulastadium fortsetzt. Wahrscheinlich ge-

schieht dies in langsamerem Tempo. Das Zusammentreffen solcher Haufen von eliminierten Chromosomenstäbchen mit den typischen Karyokinesen der normalen Chromosomen wie in Fig. 6 wird daher Sache des Zufalls sein.

Sobald sich eine Blastulahöhle entwickelt, werden die Massen eliminierten Chromatins mit dem sie umgebenden Protoplasma ins Innere der Blastula abgestoßen. Wir kommen damit zu der schon nach dem lebenden Objekt beschriebenen Erkrankung. Es finden sich zwischen den Zellen gewöhnlicher Dimensionen Plasmakörper mit großen, oft riesigen Kernblasen oder auch mehrpoligen Figuren. Die Entstehung derselben wird wohl so zu denken sein, daß infolge der im Plasma liegenden Chromatinblasen oder Chromosomenklumpen die Teilung des Plasmas unterblieb, während der Teilungscyclus der Sphären weiter ging. Freilich ist auch nicht auszuschließen, daß die Sphären in ihrer Teilungs- und Funktionsfähigkeit selbst durch die Mengen von degenerierendem Chromatin ungünstig beeinflußt wurden. Darauf wären möglicherweise die öfter gefundenen dreipoligen Teilungsfiguren zurückzuführen.

In Fig. 7 und 8 (Taf. XXVI) sind zwei Bilder erkrankter Keime gegeben, in beiden Fällen ein Schnitt, mit Heidenhains Eisenhämatoxylin gefärbt. Bei Fig. 7 handelt es sich um einen 12 Std. alten Keim, der schon Klumpen in der Blastulahöhle enthält. Dieselben bestehen manchmal nur aus Plasmafetzen, fast immer enthalten sie jedoch die oben erwähnten großen Chromatinblasen oder auch einzelne Chromatinbrocken. Häufig auch hat es den Anschein, als ob das Chromatin, wahrscheinlich infolge von Degeneration, im Plasma fein verteilt ist, bald in Form von Granulis, bald als fein verzweigtes Netz. Die Kerne in der Wandung sind fast alle gesund und öfter noch in Teilung begriffen. Im unteren Teil der Figur ist eine schöne Äquatorialplatte mit 21 Chromosomen zu sehen. Die Anordnung der Zellen ist infolge der Abstoßung großer Plasmaterritorien gestört.

In Fig. 8 ist ein Schnitt durch eine etwa 40 Std. alte Blastula abgebildet. Das nämliche Bild wie vorhin. Es hat eine Abstoßung von Protoplasmastücken mit großen Kernblasen ins Innere der Blastulahöhle stattgefunden. In der Höhle selbst degenerierendes Chromatin. In der Wandung wiederum fast ausschließlich gesunde Kerne. Die Ausstoßung der großen Chromatinblasen oder Klumpen wird der Regel nach bei der Teilung der Zelle, in der sie liegen, geschehen. Sie werden bei der Durchschnürung der Furche gleich Fremdkörpern ausgeschaltet werden. Jedoch ist auch nicht undenkbar, daß große Chromatinblasen aus dem Plasma entfernt werden, ohne daß sich dasselbe teilt.

Man kann fragen, warum die Ausstoßung des eliminierten Chromatins aus dem Plasma nicht schon früher, während der ersten Teilungen stattfindet. Da ist zu bedenken, daß dieser Vorgang ein passiver ist. Zu Beginn der Furchung ist die Menge des eliminierten Chromatins gegenüber der Größe der Blastomeren noch sehr gering. Sein störender Einfluß wird um so größer werden, je größer die Chromatinmasse selbst ist, mögen es Blasen oder Klumpen sein, und je kleiner die Zellen geworden sind. Endlich wird die Ausstoßung des eliminierten Chromatins aus dem Plasma mit der Bildung der Blastulahöhle in Beziehung stehen, indem damit der Vorgang naturgemäß sehr erleichtert sein wird.

Eines verdient noch hervorgehoben zu werden: Während der ganzen Erkrankung trifft man selten kranke Zellkerne. Die Erkrankung bezieht sich nur auf die mehr oder minder großen Blasen eliminierten Chromatins, wobei freilich zuzugeben ist, daß diese von den typischen, aus dem normalen Entwicklungsprozeß hervorgegangenen Kernen nicht zu unterscheiden sind, sobald sie ungefähr die Größe der »echten« Zellkerne besitzen. Meistens aber bietet die beträchtlichere Größe und auch die unregelmäßige Lagerung eine Handhabe zur Unterscheidung. Die Ursache für die Erkrankung des Keimes, für die Einwanderung der Zellhaufen, und damit der ganzen nach den Vorgängen im Leben beschriebenen Sistierung in der Entwicklung der Larve muß nach dem Gesagten ausschließlich dem schon bei den ersten Zellteilungen eliminierten Chromatin zugeschoben werden.

Für das Vorkommen kranker Kerne in der Blastulawand ist auch noch ein andrer Gesichtspunkt maßgebend. Infolge der schon erwähnten mehrpoligen Mitosen wird es Zellen geben, deren Chromosomenbestand in ähnlicher Weise abgeändert ist, wie es Boveri (1907) für die dispermen Eier beschreibt. Das Schicksal dieser Kerne während des Blastulastadiums wird demnach auch ähnlich sein: sie werden infolge des unrichtig zusammengesetzten Chromosomenbestandes pathologisch werden. Ganz dasselbe wird auch für kleinere Blasen des eliminierten Chromatins gelten, welche in der Blastulawand verblieben sind.

Außerdem wäre es auch wohl denkbar, daß die Gegenwart von degenerierendem, eliminiertem Chromatin zu einer Erkrankung der »echten« Zellkerne in der Blastulawand führen kann.

Wir haben im Anschluß an die Untersuchung des lebenden Objekts die Frage aufgeworfen, ob die Ausstoßung von Kern- und Zellmaterial in die Blastulahöhle mit der Einwanderung der Mesenchymzellen in Beziehung gebracht werden könnte. Auf Grund der großen Zeitverschiedenheit, mit der diese beiden Erscheinungen einsetzen, mußte die Antwort

verneinend ausfallen. Durch den cytologischen Befund wird diese Annahme vollauf bestätigt.

Die Entwicklung geht nun weiter. Der Keim vermag zu gastrulieren und Skelet zu bilden. Auch im Pluteus sind noch, wie Fig. 3 zeigt, wenigstens in den meisten Fällen, die pathologischen Zellhaufen nachzuweisen. Die Größe des Pluteus steht hinter derjenigen der Kontrollkultur wesentlich zurück (vgl. auch Vernon, 1898), was, abgesehen von verschiedener Wasserimbibition, jedenfalls auf den Substanzverlust während der Erkrankung zurückgeführt werden muß. (Vgl. Boveri, 1903, S. 350.)

Überblicken wir die bisher beschriebenen Beobachtungen an den beiden *Sphaer-Strong*-Kombinationen, so liegt das Schwergewicht ohne Zweifel in folgenden Tatsachen:

1. Bei der Kreuzung *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂, wo keine[1]) Elimination stattfindet und die Larven in den Kernen alle Chromosomen beider elterlichen Species enthalten, tragen die Plutei in ihrem Skelet die Eigenschaften sowohl des Vaters als auch der Mutter.

2. Bei der Kombination *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂, in der etwa 17 Chromosomen eliminiert werden, wo also den Kernen der Larve eine große Zahl von Elementen fehlt, tragen die Plutei in ihrem Skelet rein mütterliche Charaktere.

Hier einen ursächlichen Zusammenhang zu suchen, liegt auf der Hand. Vorbedingung ist jedoch die Lösung der Frage: Stammen die der Elimination anheimfallenden Chromosomen aus dem Eikern, aus dem Spermakern oder zum Teil aus diesem, zum Teil aus jenem?

C. Herkunft der Chromosomen, welche in den Bastardkeimen Strong ♀ × Sphaer ♂ eliminiert werden.

Die Frage kann für einzelne, durch ihre Form oder Länge besonders charakterisierte Elemente mittels genauer Untersuchung des Chromosomenbestandes gelöst werden.

Wie wir in einem früheren Kapitel gesehen haben, kommen bei *Sphaer* außer einer großen Zahl stäbchenförmiger Elemente mittlerer Länge vier Stäbchen von besonders beträchtlichen Dimensionen vor. Sie über-

---

[1]) Eine unbedeutende Ausnahme wurde weiter oben besprochen.

treffen in dieser Beziehung nicht nur alle andern *Sphaer*-Elemente, wie aus Fig. 21 *a* und *b* (Taf. XXVIII) hervorgeht, sondern auch alle *Strong*-Chromosomen von Stäbchenform. Zwei dieser langen Stäbchen gehören zum Bestand des Eikerns, die beiden andern zum Spermakern.

Beistehende Tabelle gibt die Längenmaße dieser Elemente (in mm) bei 2417facher Vergrößerung für sechs Spindeln, zum Teil aus ungeteilten, zum Teil aus zweigeteilten Eiern.

	1.	2.	3.	4.
I. Furchungsspindel	8,75	9,5	9,5	9,75
	9,0	9.0	9,0	9,5
	8,25	8,75	9.5	9,75
Zweizellen-Stadium	7,75	7,75	8,25	8,5
	8,0	8,25	8,5	8,75
	8,5	8,75	8,75	9,25
Als Mittel der Messungen von 14 Platten ergaben sich die Werte	8,0	8,5	8,75	9,5

Dagegen überschreitet das Maß der längsten Stäbchen bei *Strong* — auf die gleiche Vergrößerung berechnet — niemals den Wert von 6,25 mm. Die Länge der nächstkürzeren Stäbchen bei *Sphaer* beläuft sich im Mittel auf 6,75, im Maximum auf 7,0 mm. Somit ist immer ein deutlicher Abstand gegenüber den vier langen Elementen vorhanden. Fig. 23 *a* und *b*, eine Spindel aus einem Zweizellen-Stadium des Bastards *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂, zeigt uns die Längendifferenzen im Bild. Wir finden auch hier unter den zahlreichen, zum Teil *Strong*, zum Teil *Sphaer* zugehörigen Stäbchen mittlerer Längen zwei besonders lange, welche nur mit den zwei langen Elementen des *Sphaer*-Eikerns identifiziert werden können. In der Kombination *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ (Fig. 25 *a* u. *b*) dagegen sind unter den von der Elimination nicht betroffenen Chromosomen der regelmäßigen Tochterplatten diese beiden charakteristischen *Sphaer*-Elemente niemals zu finden. Ohne Zweifel werden sie immer eliminiert.

Ein andres an seiner Form erkennbares Element kommt nur bei *Strong*, nicht aber bei *Sphaer* vor. Es ist das lange Hakenchromosoma. Dieses kann auch nach der Elimination in den Tochterplatten fast immer nachgewiesen werden. Wenn es nicht sicher zu finden ist, dürfen wir das lediglich auf ungünstige Lagerung zurückführen.

Über die Herkunft der stäbchenförmigen Chromosomen mittlerer Länge kann auf Grund derartiger Untersuchung nichts eruiert werden.

Dagegen haben wir zur Lösung dieser Frage zwei andre im folgenden eingeschlagene Wege.

1. Die Untersuchung der Bastardtetraster. Bekanntlich entstehen Tetraster in Eiern, welche, anstatt von einem, von zwei Spermatozoen befruchtet worden sind. Die von den Spermien eingeführten Centrosomen teilen sich in typischer Weise. Wie in einem einfach befruchteten Ei zwei Sphären gebildet werden, so entstehen hier deren vier, welche sich meistens zu einer vierpoligen Figur vereinigen. In unsrem Bastardfall wird ein *Strong*-Ei von zwei *Sphaer*-Spermien befruchtet. In Fig. 9 *a* (Tafel XXVI) ist ein Tetraster im Stadium der Metaphase abgebildet. Er gehört zu einem Eifragment einer Schüttelkultur, nicht zu einem ganzen Ei. Für unsre Zwecke ist dies jedoch gleichgültig; aus der Zahl der Sphären und der Zahl der in der Figur enthaltenen Chromosomen geht hervor, daß er unter Beteiligung zweier Spermakerne und eines Eikerns zustande kam. Die Elimination hat in ganz gleicher Weise wie in den zwei poligen Spindeln eingesetzt. Zahlreiche Doppelelemente, häufig stark verklumpt, liegen zwischen den Tochterplatten, zu denen, allerdings nicht ganz regelmäßig, die normalen Elemente angeordnet sind. Fig. 9 *b* gibt dasselbe Bild wie Fig. 9 *a*, nur sind zum leichteren Verständnis die normalen Chromosomen schwarz gehalten, die eliminierten aber im Umriß gezeichnet. Unsicher, ob zu den eliminierten Chromosomen gehörend oder nicht, ist nur das zwischen Pol *a* und *d* etwas nach der Mitte zu liegende einfache Stäbchen. Es zeigt keine Verdoppelung, liegt jedoch nicht wie die andern in den Tochterplatten, sondern unter den eliminierten Chromosomen. Bei den übrigen ist kein Zweifel. Die zwei ganz kurzen, schraffierten Elemente sind Abschnitte, deren Zugehörigkeit ungewiß ist.

Die Zählung ergibt 52 oder 53 typische Tochterchromosomen. Aus dieser Zahl läßt sich in einfacher Weise berechnen, wie viele Chromosomen aus den Spermakernen und wie viele aus dem Eikern stammen. Wir haben in der zweipoligen Spindel den Chromosomenbestand eines Eikerns und eines Spermakerns. Die Zahl der in typischer Weise sich teilenden Elemente beträgt 21 oder 22. Im Stadium der Metaphase sind also in beiden Tochterplatten zusammen 42 oder 44 vorhanden, wobei wir für die weitere Berechnung die Zahl 44 wählen. Im Tetraster haben wir den Chromosomenbestand von einem Eikern, aber zwei Spermakernen. Die Zahl der normalen Elemente fanden wir in der Metaphase zu 52 (ev. 53). Die Differenz 52 — 44 = 8 muß ganz auf Rechnung des zweiten Spermakerns kommen. Jeder Spermakern ist darnach im Stadium der Metaphase mit acht Elementen an der typischen Mitose beteiligt; für die Prophase leitet sich daraus eine Beteiligung von vier Chromosomen ab.

Da, wie wir wissen (S. 510), im *Sphaer*-Spermakern 20 Chromosomen enthalten sind, kommen wir zu dem Ergebnis: Im Bastard *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ verhalten sich von den Spermakernchromosomen nur vier normal, die übrigen 16 werden eliminiert.

Die Konsequenzen für den Chromosomenbestand des Eikerns sind nun leicht zu ziehen. In der zweipoligen Spindel verhalten sich im ganzen 22 Chromosomen normal. Vier davon kommen auf Rechnung des Spermakerns, die übrigen 18 auf Rechnung des Eikerns.

Resultat: Bei der Elimination im Bastard *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ verhalten sich sämtliche Eikernchromosomen — i. e. 18 — und außerdem vier Spermakernchromosomen normal. Die Elimination erstreckt sich nur auf 16 Chromosomen des Spermakerns.

2. Die Untersuchung von Spermakernspindeln. Für diesen Zweck wurden kernlose *Strong*-Eifragmente mit *Sphaer*-Samen befruchtet. Die Eier wurden geschüttelt — oft ging ein halbstündiges Centrifugieren[1]) voraus, um den Eikern möglich nahe an die Eioberfläche zu bringen —, dann wurde *Sphaer*-Samen in großen Mengen zugesetzt. Die Durchmusterung der Kultur begann, wenn die normal befruchteten Eier die Metaphase erreicht hatten. Isolierte Fragmente zu befruchten wurde nicht versucht. Im ganzen wurden sechs Versuche angesetzt, zwei ohne jeden Erfolg; auch bei den übrigen vier gehörten Fragmente mit Spermakernspindeln zu den größten Seltenheiten. Das Material wurde zum Teil konserviert, zum Teil sofort mit Essigkarmin gefärbt und untersucht. In diesen Präparaten fand ich drei Spindeln in günstigem Stadium, deren eine in Fig. 10 (Taf. XXVI) abgebildet ist. In dem konservierten und mit Boraxkarmin gefärbten Material wurden noch zwei weitere Spindeln gefunden, dann nach der Methode von Yatsu geschnitten und in Heidenhains Eisenhämatoxylin gefärbt. Die eine dieser Spindeln aus einem 2 Std. 20 Min. alten Fragment ist in Fig. 11 abgebildet.

Beide Methoden lieferten das nämliche Resultat; klarer ist jedoch Fig. 10. Da sehen wir in der unteren Tochterplatte fünf, in der oberen vier typische Chromosomen. Alle übrigen sind gezerrte Chromatinkörper, welche sich zum Teil in den beiden Platten entsprechen, zuweilen auch noch durch einen Chromatinstrang verbunden sind. Wir werden kaum fehlgehen, wenn wir in ihnen Chromosomen sehen, welche sich nicht typisch in Tochterelemente gespalten und als solche voneinander losgelöst haben, sondern welche unter dem Einfluß der Sphären auseinander-

---

[1]) Vgl. Godlewski, 1906, S. 631.

gezerrt wurden. HERBST (1909) beobachtete ähnliche Zerrungen an den Chromosomen der Bastardeier *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂, denen vor der Befruchtung ein Anstoß zur Parthenogenese gegeben worden war. Eine exakte Zählung sämtlicher, auch der gezerrten Chromosomen war bei unsrer Figur nicht möglich. Ungefähr kommt man auf 16 Elemente. Es ist nicht ausgeschlossen, daß einige stark in die Länge gezerrte und deshalb schwer sichtbare Chromosomen übersehen wurden, womit sich die zu geringe Zahl der gefundenen Elemente erklären ließe. Jedenfalls aber sind nicht mehr als vier oder fünf in typischer Weise geteilte Chromosomen vorhanden; diese waren bei Anwendung von Essigkarmin gut zu sehen. In Fig. 11, aus drei Schnitten kombiniert, ist die mit Hämatoxylin nach HEIDENHAIN gefärbte Spermakernspindel abgebildet. Sie befand sich in dem gleichen Eifragment, in dem der Tetraster von Fig. 9 entwickelt war. Da die Chromosomen des Eikerns im Tetraster stecken, kann die uns vorliegende Figur nur als Spermakernspindel gedeutet werden. Im Bereich der unteren Sphäre liegen drei typische Chromosomen, im Bereich der oberen Sphäre vier oder, da das kleine Element rechts wahrscheinlich als Abschnitt des benachbarten längeren anzusehen ist und auch an der Schnittfläche liegt, ebenfalls drei. Alles übrige Chromatin liegt in Form großer Klumpen zwischen den beiden Sphären. Die in der Abbildung nur unvollkommen reproduzierte Struktur dieser Chromatinkörper läßt die Auffassung gerechtfertigt erscheinen, daß dieselben aus zahlreichen Elementen, die sich nicht typisch gespalten haben, bestehen. Wir finden solche Verklumpungen auch im Tetraster der Fig. 9*a* und in der oben genannten Arbeit von HERBST (1909, Fig. 14). Das Fazit unsrer Untersuchung geht somit dahin, daß sich in den beiden Spermakernspindeln sehr wahrscheinlich nur drei bis fünf Chromosomen befinden, die sich typisch gespalten haben und während der Metaphase auseinanderrücken. Alle übrigen sind entweder verzerrt oder zu Klumpen vereinigt und haben jedenfalls eine typische Spaltung und Bildung von freien Tochterelementen nicht durchgeführt. Sie zeigen das nämliche Verhalten wie die eliminierten Chromosomen in der zweipoligen Spindel normal befruchteter Eier.

Das Ergebnis der Untersuchung am Tetraster lautete: von den Spermachromosomen machen vier den typischen Gang der Mitose mit. — Hier sind es deren drei bis fünf. Die beiden Resultate stimmen somit vollständig überein.

Wir sind damit zu folgendem, für die Beurteilung der Entwicklung unsres Bastards wichtigen Ergebnis gekommen: In der Bastardkombination *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ werden die 18 mütterlichen

Chromosomen von der während der ersten Furchungsmitosen stattfindenden Elimination nicht betroffen. Von den 20 väterlichen Elementen werden 16 oder 17 eliminiert; die übrigen vier machen die Teilungsvorgänge in gewöhnlicher Weise mit.

Den weiteren Teilungen der kernlosen Eifragmente ging ich nicht nach, da schon das Aufsuchen der Spermakernspindeln in den ungeteilten Fragmenten genügend mühselig war.

III. Die beiden Kombinationen von Sphaer und Ech.

A. Sphaer ♀ × Ech ♂.

Über diese Kombination ist nicht viel Neues zu sagen, zumal sie schon von zahlreichen Autoren gezüchtet wurde. Sie ist im wesentlichen der Kombination *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ analog. Die Befruchtung erfolgte allerdings nicht mit gleicher Leichtigkeit. Die Entwicklung verläuft ohne Erkrankung, im Tempo der Mutterspecies. Das Gastrulastadium wird 2 Tage, das Stadium des Jungpluteus 4 Tage nach der Befruchtung erreicht. Die Mesenchymzellen ordnen sich in typischer Weise zum Ring an.

Der Pluteus trägt intermediären Skeletcharakter. Es wurden zwölf Stücke untersucht, darunter:

7 Plutei mit deutlich geweihartigen, verzweigten Scheitelstäben und jederseits zwei bis drei Analstäben.

1 Pluteus mit geweihartigen Scheitelstäben. Im einen Analarm zwei Analstäbe, im andern einer.

2 Plutei mit wenig verzweigten, stark keulig verdickten Scheitelstäben und jederseits zwei bis drei Analstäben.

1 Pluteus mit wenig verzweigten Scheitelstäben und jederseits drei Analstäben.

1 Pluteus mit stark verzweigten Scheitelstäben. Analarme und Analstäbe nicht ausgebildet.

Die jüngsten dieser Plutei sind 6, die meisten 8—10 Tage alt. Ein Scheitelrahmen wurde nie beobachtet, ebenso wenig Gitterstäbe. Wie bei *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ vereinigen auch diese Plutei väterliche und mütterliche Skeleteigenschaften.

Eine Elimination von Chromosomen findet nicht statt; die Elemente beider Eltern sind alle in den Kernen der Larve vertreten. Über die Kerngröße bei den Bastard- und Kontrollplutei wurde schon berichtet (S. 511).

Fig. 32 *a* und *b* (Taf. XXIX) stellt eine Furchungsspindel in früher Metaphase aus einem ungeteilten Ei dar. Alle Chromosomen haben sich gespalten. Die beiden charakteristischen langen von *Sphaer* stammenden Stäbchen, die wir bei *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ gefunden hatten, begegnen uns auch hier wieder. Von den *Echinus*-Elementen sind zwei durch die Form nachweisbar: das lange hakenförmige Chromosoma (Fig. 32 *a*) und ein hufeisenförmiges Element (Fig. 32 *b*), welches jedoch infolge zu geringer Differenzierung des Hämatoxylins die beiden Schenkel nicht gesondert erkennen läßt. Vielmehr gleicht es einer kleinen kompakten Kugel, auffallend durch die Breite, welche, den beiden Schenkeln des Hufeisens entsprechend, etwa das Doppelte der Stäbchenbreite ausmacht.

Gezählt wurden 38 Chromosomen.

Literatur. An dieser Kombination wurden die ersten Untersuchungen ausgeführt, die das Skelet der Plutei zur Bestimmung der Vererbungsrichtung verwerteten:

Boveri 1889, 1896, 1903; Seeliger 1895, 1896; Morgan 1896.

Der Befund Boveris (1889, 1896), daß der Bastard im Skelet stets eine zwischen den elterlichen Species stehende Mittelform darbietet, welche von den elterlichen Larvenformen immer unterschieden werden kann, wurde von Seeliger (1895, 1896) und Morgan (1896), später auch von Steinbrück (1902) bekämpft. Diese Autoren wiesen darauf hin, daß die Bastarde sich in ihren Skeletformen den elterlichen Larvenformen stark nähern können. Seeliger (1895, Fig. 14 u. 15, 28 u. 29) beschreibt und zeichnet Bastardlarven von rein väterlichem Skelettypus. Das von Boveri verwendete Material aus Neapel ist, wie meine Beobachtungen bestätigen, regelmäßiger in der Form und zeigt in den beiden elterlichen Species größere Unterschiede als Seeligers Larven von Triest. Aus diesem Grunde darf es, wie Boveri hervorhebt, als geeigneter für die Bastardversuche angesehen werden.

Vernon (1898, S. 494), der mit Neapler Material arbeitete, kam zu dem Schluß, daß die Bastardplutei zwar stark variabel seien, aber mehr oder weniger doch von intermediärem Typus. Zusammenfassend dürfen wir sagen, daß nach allen Autoren im Skelet des Bastards der Regel nach Einflüsse beider Eltern erkennbar sind, womit meine Ergebnisse durchaus harmonieren.

B. Ech ♀ × Sphaer ♂.

Die Befruchtung ging außerordentlich schwer. Der Prozentsatz an befruchteten Eiern blieb, wenn solche überhaupt vorhanden waren, äußerst minimal. Dabei wurde stets verschiedener NaOH-Gehalt bis zu

3,5 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH-Lösung auf 100 ccm Wasser und außerdem auch gewöhnliches sterilisiertes Seewasser zur Bastardierung verwendet. Von 25 angesetzten Versuchsreihen waren 17 überhaupt vergeblich; fünf hatten einen sehr geringen Erfolg, der für meine Zwecke nicht genügte. Von den drei übrigen, einigermaßen erfolgreichen Versuchen sei der eine in seinem Entwicklungsverlauf kurz beschrieben.

Bastard *Ech* ♀ × *Sphaer* ♂		Datum		Kontrollkultur *Ech*
Befrnchtnng	1 Uhr 20 Min.	9. III. 09	1 Uhr 20 Min.	Befruchtung
Alle Blastulae mit Zellhaufen gefüllt. Einzelne noch ziemlich durchsichtig, die übrigen trüb	10 Uhr	10. III.	5 Uhr 30 Min.	Gastrulae mit Mesenchymzellenring
Blastulae, mit Zellenhaufen gefüllt, undurchsichtig, zuweilen mit Ansatz zur Gastrulation	10 Uhr	11. III.	10 Uhr	Jungplutei
Blastulae, zuweilen mit geringer Einstülpung, meist ohne Skelet. Hier und da gebogene Skeletstäbe oder große Dreistrahler. Keine Plutei		19. III.		

Die Übereinstimmung dieses Entwicklungsgangs mit demjenigen von *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ ist einleuchtend. Schon in der 20. Stunde nach der Befruchtung waren die Keime erkrankt. Plutei konnten niemals gezüchtet werden. Die Larven starben in allen Versuchen als Blastulae oder Blastulae-Gastrulae, gefüllt mit Haufen kranken Zellen- und Chromatinmaterials.

Der Vergleich der Kerngrößen dieser Blastulae mit den Gastrulae der Normalkultur ergibt auch hier wieder eine starke Größendifferenz. Eine genaue Vergleichung aber ist deshalb unmöglich, weil uns keine Bastardplutei zur Verfügung standen, die sich mit Plutei der Kontrollkultur hätten vergleichen lassen.

Einige erste Furchungsstadien, welche ich untersuchen konnte, zeigen, daß eine Elimination einsetzt. Fig. 33 *a* (Taf. XXIX) gibt eine Spindel aus einem Zweizellen-Stadium in Seitenansicht wieder. Zwischen

den Platten der normalen Elemente liegen verklumpt eliminierte Chromosomen. Die Zählung der beiden Platten, deren Polansichten in Fig. 33 *b* und *c* abgebildet sind, gibt

22 und 24 Chromosomen.

Diejenige eines andern Objekts, ebenfalls eines Zweizellen-Stadiums:

21 22.

Durchschnittlich machen also 22 Chromosomen den typischen Kernteilungsvorgang mit. Bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ waren es 21 oder 22. Die Zahlenverhältnisse sind im übrigen gleich: *Ech* hat gleich viel Chromosomen wie *Strong*, in den Furchungsspindeln 36, in jedem Vorkern 18.

Die Parallelen, die sich zwischen den Kombinationen von *Strong* ♀ und *Ech* ♀ mit *Sphaer* ♂ ziehen lassen, machen natürlich auch für *Ech* ♀ × *Sphaer* ♂ sehr wahrscheinlich, daß die Elimination ausschließlich Chromosomen des Spermakerns betrifft. Eine Beweisführung mittels Spermakernspindeln und Tetrastern war jedoch infolge der Schwierigkeiten der Bastardbefruchtung von vornherein aussichtslos und wurde aus diesem Grunde nicht versucht. Für einzelne Chromosomen dagegen ließ sich die mütterliche Herkunft bei einer günstigen mit Essigkarmin gefärbten Spindel aus der Form nachweisen: so für den langen Haken von *Echinus* — *Sphaer* besitzt keinen — und für das hufeisenförmige, ebenfalls für *Ech* charakteristische und bei *Sphaer* nicht vorhandene Chromosoma. Beide befinden sich unter den nicht ausgeschiedenen Elementen.

Fassen wir unsre Beobachtungen zusammen, so kommen wir zu folgendem Resultat: Bei *Ech* ♀ × *Sphaer* ♂ findet in der nämlichen Weise und Ausdehnung wie bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ eine Elimination von etwa 16 Chromosomen statt. Diese leiten sich aller Wahrscheinlichkeit nach vom Spermakern ab. Nur 22 von den 38 Elementen machen den gewöhnlichen mitotischen Vorgang der ersten Furchungen mit. Unter diesen ließen sich einzelne als mütterlich erkennen. Im weiteren Entwicklungsverlauf tritt wie bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ eine Erkrankung ein.

In der Literatur finden wir über die Kombination *Ech* ♀ × *Sphaer* ♂ nur wenige Notizen. Sie beziehen sich auf die Plutei und sind von um so größerem Wert, weil mir selbst die Aufzucht von Larven mit Skelet nicht gelang. Die Autoren stimmen miteinander leidlich überein.

Morgan (1895) erhielt "one very good larva. In one anal arm there was a long and a short prong and in the other arm only one prong"

(p. 276). Vernon (1898) erhielt bei einem Versuch über 50% Plutei, die er bis über ein Alter von 8 Tagen brachte. Die Larven waren also sicher ausgewachsen. "The hybrid larvae were all of the *Echinus* Type, the chief abnormality noticed being a tendency of the basal part of the body skeleton to spread out into irregular projections". . . . Ferner "A few also had rather twisted skeletons, and in a few there were projections and abnormalities in other parts of the skeleton besides the base" (l. c. p. 495). Soviel aus dieser Beschreibung entnommen werden kann, schlagen die Bastarde ausschließlich nach der Mutter. Die zitierten Abnormitäten werden von Vernon, so weit sich erkennen läßt, nicht als Anklänge an *Sphaer* bezeichnet. Leider gibt Vernon ebensowenig wie Morgan eine Abbildung.

IV. Die Kombination Arb ♀ × Sphaer ♂.

1. Entwicklungsverlauf. Einige kurze Angaben mögen genügen.

Durchschnürung der	I. Furche:	2 Std. bis 2 Std. 10 Min.	nach der Befruchtung	
»	» II. »	3 » 45 Min.	» » »	
»	» III. »	4 » 50 »	» » »	

Die Zeiten variierten stark. Zuweilen fanden sich nebeneinander 4-, 8- und 16-Zellenstadien. Große Neigung scheint für die Bildung von Monastern zu herrschen. So wurden solche in einer Kultur noch 5 Std. nach der Befruchtung in fast sämtlichen befruchteten Eiern festgestellt.

Infolge der Undurchsichtigkeit der Eier ist die Verfolgung des Entwicklungsgangs erschwert. Die Blastulae scheinen immer zu erkranken. Sie sind mit pathologischen Zellhaufen gefüllt. Wann die Erkrankung einsetzt, wurde nicht beobachtet. Die meisten Keime gehen nach einem langen Leben als Stereoblastulae zugrunde. Pluteusartige Larven entwickeln sich nur selten. Die beste besaß Gitterstäbe in den Analarmen und etwas gegabelte Scheitelstäbe. Auf die Entwicklungsrichtung — väterlich, mütterlich oder intermediär — ließen diese Charaktere indessen keinen Schluß zu, da sie nicht völlig und auch nicht gut ausgebildet waren. Überdies sind Analgitterstäbe beiden Species gemeinsam.

Aus der Literatur müssen wir auf Doncasters und Fischels Arbeit hinweisen. Die Plutei, welche Doncaster (1903) züchtete "closely resembled pure-bred *Arbacia* larvae, but were smaller and less regular" (l. c. p. 137). Dem stehen die Angaben Fischels gegenüber, wonach im »Verhalten der Scheitelstäbe eine Beeinflussung von väterlicher Seite vorliegt« (1906, S. 512). Diese Stäbe sind »in späteren Stadien am Scheitel

der Larven durch eine mit kräftigen Höckern besetzte Querbrücke miteinander verbunden, wie sie in dieser Form nur bei den *Echinus*-Larven[1]) vorkommt« (ebenda. S. 512). Dagegen ist »die Art der Gitterung der Analstäbe dem *Arbacia*-Typus mit seinen unregelmäßigen Lücken zwischen den Hauptstäben verwandt« (ebenda).

Wenn wir uns an die Figuren von FISCHELS Arbeit halten, stimmt das. Allerdings muß bemerkt werden, daß die in ihr gegebenen Charakteristika der beiden elterlichen Species sich mit den von andern Autoren gegebenen nicht decken. Vom Scheitelrahmen bei *Sphaer* spricht FISCHEL nicht. Ich gebe hier seine Beschreibung: Das Skelet der reinen *Echinus*-Larven besitzt »Scheitelstäbe mit krückenförmig gebogenen Enden, die einander entweder dicht anliegen oder miteinander verschmelzen. Sie sind mit zahlreichen kurzen, kräftigen Höckern besetzt, die sich übrigens auch an den Außenflächen des Scheitelstabs vorfinden« (l. c. S. 512). Sowohl aus diesem Text, wie auch aus der beigefügten Abbildung muß man schließen, daß die von FISCHEL beobachteten *Sphaerechinus*-Larven in ihrem Scheitelskelet von dem gewöhnlichen Typus mit Scheitelrahmen abweichen. (Vgl. J. MÜLLER, 1852, Taf. VIII und 1855, S. 5; SEELIGER, 1895; BOVERI, 1896; DRIESCH, 1898; VERNON, 1898, Fig. 2 u. 3; DONCASTER, 1903, Fig. 1 u. 2 u. a.) Vielmehr sind FISCHELS *Sphaer*-Skelete dem gewöhnlichen Typus von *Arbacia* ähnlich, indem die Scheitelstäbe bei dieser Species zu einem Bogen zusammenneigen und bald nur scheinbar verbunden, bald wirklich miteinander verschmolzen sind, immer aber ohne Bildung eines Rahmens. Man vergleiche dafür J. MÜLLER, 1855, S. 11 und Taf. II; VERNON, 1898, Fig. 18 u. 19 und DRIESCH, 1898, S. 88 u. 89.

Von diesem Typus weichen FISCHELS *Arb*-Larven ab. Ich gebe seine Beschreibung: »Der Scheitelstab endet mit einem Kolben, der mit kurzen, plumpen Stacheln besetzt ist; die Scheitelstäbe liegen einander dicht an oder sie sind, besonders bei älteren Larven, miteinander verwachsen« (l. c. S. 511. Vgl. seine Fig. 7 u. 8).

DRIESCH (1898) züchtete bei seinen Versuchen drei Bastardplutei, gibt aber leider keine Beschreibung. VERNON (1898, S. 501) brachte die Bastarde nicht bis zum Pluteusstadium.

So muß wohl die Frage, welchen Charakter das Skelet dieser Bastarde trägt, noch unentschieden bleiben.

Die Kerngröße der Larven ist allem Anschein nach geringer als diejenige der Normalkultur. Die Messungen von vier Bastardlarven und

[1]) *Echinus brevispinosus* = *Sphaerechinus granularis*.

drei *Arb*-Plutei der Kontrollkultur lieferte ein Verhältnis von 25 : 36. Anspruch auf große Genauigkeit kann jedoch diese Rechnung nicht machen, weil die Bastardlarven keine Plutei, sondern kranke Gastrulae waren. Auch fanden sich nicht selten Larven, deren Kerne die verschiedenste Größe besaßen.

2. Die cytologische Untersuchung der ersten Furchungsstadien. Auch bei diesem Bastard tritt eine Elimination von Chromosomen ein.

Bevor ich an die nähere Beschreibung herangehe, ist es notwendig, die Chromosomen von *Arbacia* in ihrer Form und Zahl kurz zu besprechen. In der Literatur finde ich nur eine kurze Angabe von Tennent (1907). Auf welche *Arb*-Species sich seine Mitteilung bezieht, ist nicht ersichtlich. Er bezeichnet die Chromosomen als "short, slightly bent rods" (S. 132). Sie sind, nach seiner Figur zu schließen, verschieden lang. Hervorzuheben ist, daß er seine Untersuchung an Äquatorialplatten gemacht hat. Nach meinen früher gemachten Beobachtungen (1909 a) an *Strong* und *Ech* sind jedoch specifische Formen erst in der Metaphase nachweisbar.

In Fig. 34 (Taf. XXIX) sind die Chromosomen aus einer Spindel eines ungeteilten Eies im Stadium der Metaphase abgebildet. Vergleichen wir damit die bei gleicher Vergrößerung gezeichneten Chromosomenbilder von *Sphaer* in Fig. 21, so fällt der wesentliche Größenunterschied in die Augen. Die *Arb*-Elemente sind unter sich verschieden lang, fast alle aber kürzer als die kürzesten *Sphaer*-Chromosomen. Nur wenige Elemente der beiden Species sind ungefähr an Länge gleich und deshalb nicht voneinander zu unterscheiden.

Die Form der *Arb*-Chromosomen ist recht mannigfaltig. Außer kurzen Stäbchen kommen auch kleine Häkchen und U-förmige Gebilde vor (Fig. 34). Irgendwelche Gesetzmäßigkeit aber konnte ich nicht auffinden. Die Kleinheit der Chromosomen, außerdem auch die Beschaffenheit des Plasmas erschwert die Untersuchung in hohem Maße.

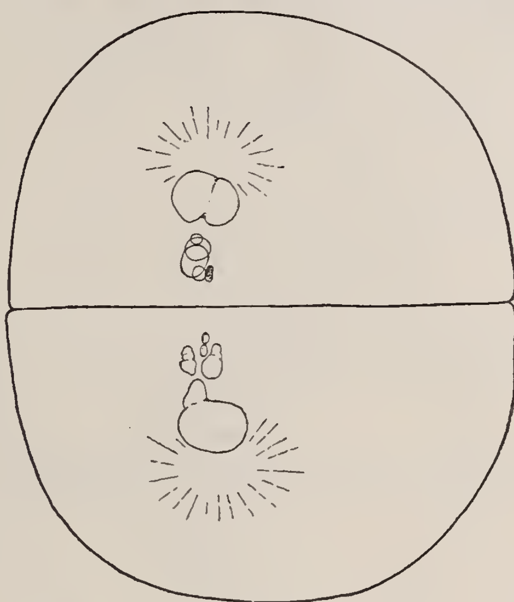
Die Chromosomenzahl kann in den Furchungsspindeln ziemlich sicher auf 40 angesetzt werden. In Fig. 35 sind die beiden Tochterplatten einer in Metaphase befindlichen Spindel eines Vierzellen-Stadiums in Polansicht dargestellt. Beide enthalten 40 Elemente. Etwas unsicher ist die Zählung leider immer infolge der verschiedenen Chromosomenformen. Ein U-förmiges Element wird sich in der Polansicht nicht als einfacher, schwarzer Punkt, sondern als ∞-ähnliches Bild zeigen. Oder jeder Schenkel wird für sich einen Punkt darbieten. Der Fehler, statt eines Elements in

einem derartigen Fall zwei zu zählen, ist um so leichter möglich, als die Chromosomen überhaupt eng gedrängt sind. Ähnlich steht es mit den hakenförmigen Chromosomen.

Ich gebe in nachstehender Tabelle die Resultate einer Reihe von Zählungen. Im ganzen wurden 19 Tochterplatten in Polansicht aus



Textfig. IX.
Arb ♀ × *Sphaer* ♂. Erste Furchungsspindel. Vergr. 1/1000.



Textfig. X.
Arb ♀ × *Sphaer* ♂. Zweizellen-Stadium. Vergr. 1/1000.

zwölf Spindeln, alle aus Zweizellen-Stadien untersucht. Darunter waren:

1	Platte	mit	38	Elementen
7	Platten	»	39	»
7	»	»	40	»
2	»	»	41	»
2	»	»	43	»
	Durchschnitt		40,4.	

Wir kehren nun zur Untersuchung der Bastardspindeln zurück. Die Elimination der Chromosomen geht in nahezu identischer Weise wie bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ vor sich. Sie ist auch hier mit dem Zweizellen-Stadium beendet. In Textfig. IX—XI sind einige Bilder nach Essigkarminpräparaten gegeben. Für alle lassen sich Parallelen bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ auffinden.

Textfig. IX: Metaphase der I. Furchungsspindel. Die Chromosomen stehen im Übergang zur Bläschenform. Im Äquator der Spindel liegt eliminiertes Chromatin.

Textfig. X: Ein ganz frühes Zweizellen-Stadium. Textfig. IX und X entsprechen sich insofern nicht ganz, als die Elimination allem Anschein nach bei Fig. IX schon in der ersten Teilung vollständig ist; bei Fig. X



Textfig. XI.
Arb ♀ × *Sphaer* ♂. Zweizellen-Stadium. (Etwas gepreßt.) Vergr. 1/1000.

aber gelangten die eliminierten Chromosomen als Nachzügler noch in beide Tochterzellen und sind als Bläschen neben dem Furchungskern, der Zellgrenze benachbart, zu erkennen. Jedoch wird auch hier eine regelmäßige Spaltung der auszuschaltenden Elemente nicht stattgefunden haben. Wir haben solche Varianten in der Elimination auch bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ gefunden. Im Endresultat läuft der Prozeß, wie die Zählungen beweisen werden, stets auf dasselbe hinaus.

Textfig. XI: Ein Zweizellen-Stadium mit Äquatorialplatten. Das Stadium schließt sich dem in Textfig. X abgebildeten sehr gut an.

Ein Folgestadium zu Textfig. XI ist in Fig. 36 *a* und *b* (Taf. XXIX) nach einem mit HEIDENHAINS Eisenhämatoxylin gefärbten Präparat gezeichnet. Es ist die in Metaphase befindliche Spindel aus einer Blastomere eines Zweizellen-Stadiums. Die eliminierten Chromosomen liegen in Form von Klumpen auf der linken Seite der Figur. Noch weiter nach dieser Seite, nahe benachbart den äußersten eliminierten Chromosomen wäre die Furche zu denken, welche die beiden Blastomeren trennt, aus Rücksicht auf den Raum hier jedoch nicht gezeichnet wurde. Die normalen Elemente sind zu typischen Tochterplatten angeordnet, je 22 an der Zahl. Mitten in der oberen Platte (Fig. 36 *b*) liegen zwischen den normalen zwei ungeteilte Doppelchromosomen, ein Beweis, daß die Wirksamkeit der Sphären sich auch auf die eliminierten Elemente erstreckt. Übrigens wird dies schon dadurch wahrscheinlich gemacht, daß die Sphärenradien an die Chromosomenklumpen heranziehen.

Die Zahl der eliminierten Chromosomen. Zu diesem Zweck wurden die nicht eliminierten Elemente gezählt und dabei folgende Ergebnisse erzielt:

Spindeln im ungeteilten Ei. Eine Zählung: 22.

Spindeln des Zweizellen-Stadiums. 17 Chromosomenplatten wurden gezählt. Darunter

4mal	21	Chromosomen
10mal	22	»
1 »	23	»
1 »	24	»
Mittel	21,9	Chromosomen.

Spindeln des Vier- und Achtzellen-Stadiums. Sieben Platten wurden gezählt. Durchschnittsresultat: 22,1.

Resultat: Nach der Elimination nehmen noch 22 Chromosomen an den typischen Furchungsmitosen teil. Da jeder Vorkern der beiden Species 20 Elemente enthält, im ganzen also 40 vorhanden sein müßten, werden 18 eliminiert.

3. Die Herkunft der eliminierten Chromosomen. Schon die Formen der nicht eliminierten Elemente (Fig. 36), die Häkchen- und Hufeisenformen zeigen im einzelnen, daß die normalen Chromosomen wenigstens zum Teil zu *Arb* gehören. Denn, wie wir schon wiederholt gesehen haben, hat *Sphaer* nur stäbchenförmige, gerade Elemente. Infolge der beträchtlichen Größendifferenz, welche zwischen den *Sphaer*- und *Arb*-Chromosomen besteht, ist es möglich, auf Grund von Längen-

messungen nachzuweisen, daß die eliminierten Chromosomen sämtlich aus dem Spermakern stammen.

In beistehender Tabelle sind die Längenmasse für die Chromosomen von *Arb*, *Sphaer* und den Bastard eingetragen, alle gemessen an Zeichnungen von 2270facher Vergrößerung. Die am Kopf der Kolonnen stehenden Zahlen bedeuten die Längen in Millimetern, die in den Kolonnen stehenden Ziffern die Anzahl der Elemente, welche die oben angegebene Länge aufweisen. Für *Arb* sind die Durchschnittsresultate der Messungen an zwölf Chromosomentochterplatten von Spindeln aus sechs Keimen eingetragen, teilweise ungeteilten Eiern, teilweise Vierzellen-Stadien entnommen. Über dieser Reihe stehen die Längenmaße von *Sphaer*, gewonnen aus 14 Messungen an Chromosomentochterplatten von Spindeln aus ungeteilten und zweigeteilten Eiern. Aus Zweckmäßigkeitsgründen wurden diese Zahlen halbiert. Die Tabelle gibt nur die Hälfte der für jedes Längenmaß in den Furchungsspindeln gefundenen Chromosomenzahl. Bekanntlich treten bei homospermer Befruchtung in den Furchungsspindeln die Chromosomen, ihrer Herkunft aus zwei Vorkernen gemäß, in Form und Länge paarweise auf. Die Untersuchung an Bastarden ohne Elimination hat dies für manche Elemente bestätigt. Die Zahlen unsrer Tabelle geben somit für *Arb* und *Sphaer* den Bestand, wie ihn jeder Vorkern aufweist. Es ist klar, daß dies die Zahlen sind, die für den Bastard, bei dem jede Species nur mit einem Vorkern beteiligt ist, ohne weiteres in Rechnung zu bringen sind.

Zunächst zeigt sich, daß die größte Länge der *Arbacia*-Chromosomen über 3,75 mm nicht hinausgeht und daß diese maximalen Längen nur spärlich vertreten sind. Die minimale Länge bei *Sphaer* sinkt nicht

	1,0—1,75	2,0—2,75	3,0—3,25	3,5—3,75	4,0—4,75	5,0—5,75	6,0—6,75	7,0—7,75	8,0—8,75	9,0—9,75	Total
Sphaer	—	—	3	4	7	3	1	—	1	1	20
Arbacia	8	10	1	1	—	—	—	—	—	—	20
Arb ♀ × *Sphaer* ♂	3	12	5	2	—	—	—	—	—	—	22

unter 3,0 mm; die maximale Länge aber liegt bei dieser Species zwischen 8,0 und 10,0 mm — es sind jene besonders langen Stäbchen, in den Furchungsspindeln in der Vierzahl, in den Vorkernen in der Zweizahl, welche die kurzen Elemente um mehr als das Dreifache an Länge übertreffen. Daraus ergibt sich, daß 18 *Arb*-Chromosomen (Längen 1,0—2,75) von 13 *Sphaer*-Chromosomen (Längen 4,0—9,75) ohne weiteres nach ihrer Länge auseinander gehalten werden können. Nur der Bereich von

3,0—3,75 mm enthält Chromosomen beider Species. In der dritten Reihe der Tabelle sind die Chromosomenlängen unsres Bastards angegeben. Es sind Durchschnittsresultate aus acht Messungen, ausgeführt an Spindeln von Zweizellen-Stadien. Eine der Spindeln ist in Fig. 36 *a* und *b* abgebildet. Die Längen der Bastardchromosomen gehen über die Grenze 3,75 nicht hinaus, liegen also innerhalb der von *Arbacia* eingenommenen Zone. Eliminiert sind darnach alle Chromosomen von 4 mm aufwärts, 13 an der Zahl, welche nur zu *Sphaer* gehören können. Es ist nun die Frage, ob wir für die übrigen eliminierten Chromosomen ebenfalls die Zugehörigkeit zu *Sphaer* annehmen dürfen. Da nach der Elimination 22 Elemente vorhanden sind, die Zahl der *Arbacia*-Chromosomen in jedem Vorkern aber 20 beträgt, so müssen unter den 22 Elementen des Bastards mindestens zwei *Sphaer*-Chromosomen sein, welche in der Kolonne 3,0—3,75 zu suchen sind. Die Zahl der in ihrer Herkunft nun noch unbestimmten Elemente reduziert sich also auf fünf und, da auch von den *Arb*-Chromosomen zwei in die Kolonne 3,0—3,75 hineingehören, auf drei. Für diese kann man bei den Schwankungen, denen die Messungen unterliegen[1], keine Auskunft geben. Wir dürfen aber nach dem Gefundenen und in Anlehnung an die Beobachtungen bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ ihre Herkunft aus dem *Sphaer*-Spermakern für sehr wahrscheinlich halten.

Resultat: Die eliminierten 18 Chromosomen des Bastards *Arb* ♀ × *Sphaer* ♂ sind wie in den andern *Sphaer* ♂ - Kombinationen mit großer Wahrscheinlichkeit alle väterlichen Ursprungs. Von den mütterlichen Chromosomen werden allem Anscheine nach keine eliminiert.

Vergleichen wir die Kombination *Arb* ♀ × *Sphaer* ♂ mit den beiden andern, *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ und *Ech* ♀ × *Sphaer* ♂, so zeigt sich, daß in allen drei Fällen die Elimination eine gleiche ist. Nur scheint sie bei der *Arb*-Kombination einen etwas weiteren Umfang anzunehmen. Denn da der Gesamtbestand an Chromosomen hier 40, nicht wie bei jenen 38 beträgt, die Zahl der übrig bleibenden, nicht eliminierten Elemente aber dieselbe ist, müssen in der Regel zwei Chromosomen mehr eliminiert werden.

Unsere bisherigen Resultate lassen sich kurz zusammenfassen:

1. In den Bastarden *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ und *Sphaer* ♀ × *Ech* ♂

[1] Auch ist das zur Bastardierung verwendete Eimaterial nicht dasselbe, wie das für die *Arb*-Messungen verwendete. Darin dürfte eine weitere Ursache für geringe Differenzen zu sehen sein.

ist die Entwicklung bis zum Pluteus von derjenigen der Kontrollkulturen nicht verschieden. Die Chromosomen verhalten sich bis auf geringe Ausnahmen normal und sind alle in den Kernen der Plutei vertreten. Die Larven besitzen in der Regel ein Skelet von intermediärem Charakter.

2. In den Bastarden *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂, *Ech* ♀ × *Sphaer* ♂, wahrscheinlich auch *Arb* ♀ × *Sphaer* ♂ setzt schon vor Erreichung des Blastulastadiums eine Erkrankung ein. Die Chromosomen des Spermakerns werden zum größten Teil während der ersten Furchungen eliminiert. Sie machen die typischen Karyokinesen nicht mit. Die Aufzucht bis zum Pluteus gelang nur bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂. Diese Larven enthalten in ihren Kernen vorwiegend mütterliches Chromatin. Ihr Skelet zeigt fast immer rein mütterlichen Charakter.

V. Die Bastardkombinationen mit Arb ♂.

Wenn wir mit den bei den *Sphaer* ♂-Bastarden gemachten Erfahrungen an die Untersuchung der Bastarde herantreten, in denen *Arb* von väterlicher Seite beteiligt ist, so scheinen alle unsre bisherigen Ergebnisse wieder erschüttert zu werden. Bei den *Arb* ♂-Bastarden tritt in den ersten Furchungen keine Elimination von Chromatin ein und trotzdem zeigen die Plutei mütterlichen Charakter.

A. Strong ♀ × Arb ♂.

Ich beschreibe bei dieser Kombination zuerst den Fall, der in seiner Entwicklung und Skeletbildung der Plutei als typisch bezeichnet werden kann und dem auch die Mehrzahl der Plutei angehören. In einem zweiten Abschnitt werde ich auf die Ausnahmen, die in ihrer Deutung weniger sicher sind, eingehen.

I. Typischer Fall.

1. Entwicklungsverlauf. Die Befruchtung gelang in mehreren Kulturen in weitgehendem Maße. Bei manchen Versuchsreihen wurden fast alle Eier befruchtet, und kamen auch alle befruchteten zur Entwicklung. Von den 24 angesetzten Zuchten blieben nur wenige ganz erfolglos. Allerdings kommt es nicht selten vor, daß ein Spermium zwar eindringt, dann jedoch untätig liegen bleibt und auch keine Sphären entwickelt werden. Dies kann in einzelnen Kulturen so allgemein geschehen, daß beinahe in jedem Ei außer dem Eikern noch ein mit Essigkarmin stark rot gefärbter Spermakern nachzuweisen ist und trotzdem sich kaum einige Keime weiter entwickelt hatten.

Die Furchungsteilungen setzen, wie schon DRIESCH (1898) mitgeteilt hat, im Tempo der Mutterspecies ein. So hatte bei einer Versuchsreihe sowohl bei der Bastard- wie bei der Kontrollkultur 2 Std. 25 Min. nach der Befruchtung die zweite Furche durchgeschnürt, was auch mit der Angabe ERDMANNS (1909, S. 90) für *Strong* (2 Std. 20 Min.) übereinstimmt. Den Angaben in den früheren Kapiteln unsrer Arbeit lassen sich die genannten Ergebnisse anschließen. Es ist aber auch zu beachten, daß allem Anschein nach der Spermakern samt Centrosom zuerst untätig bleiben kann und erst nach einiger Zeit die Spindelbildung eingeleitet wird. So trat in einem Fall die II. Furche erst $4^1/_2$ Stunden nach der Befruchtung ein und öfters finden sich verschiedene Furchungsstadien nebeneinander in der gleichen Zuchtschale. Die Beobachtungen FISCHELS (1906, S. 504), wonach die Bastardkultur sich langsamer entwickelt als die Kontrollkultur, dürften wohl in vielen Fällen auf solche Untätigkeit der Spermakerne zurückgeführt werden, umsomehr als bei FISCHEL die Verspätungen sehr verschieden sind.

Die Entwicklung geht bis zum Blastulastadium normal weiter, wie für einige der besten Kulturen folgende Tabellen zeigen, in denen auch Angaben über die weitere Entwicklung, über die Erkrankung und die Erreichung des Pluteusstadiums aufgenommen sind.

Zucht A.

Kontrollkultur *Strong*				Bastardkultur
Befruchtung . . .	4 Uhr 50 Min.	27. III. 09	4 Uhr 50 Min.	Befruchtung
Gastrulae (sekundäres Mesenchym beginnt sich zu entwickeln) . . .	7 Uhr 30 Min. abends	28. III.	7 Uhr 30 Min. abends	Blastulae, krank. Einzelne mit nur sehr wenigen kranken Zellen
Plutei	6 Uhr abends	29. III.	6 Uhr abends	Blastulae, zuweilen mit Einstülpung
		30. III.	8 Uhr	do.
		1. IV.		1 Jungpluteus, sonst nur Blastulae mit oder ohne Einstülpung

Zucht B.

Kontrollkultur *Strong*				Bastardkultur
Befruchtung . . .	4 Uhr	31. III.	4 Uhr	Befruchtung
Blastulae mit Mesenchymzellenbildung	8 Uhr	1. IV.	8 Uhr	Blastulae mit Mesenchymzelleneinwanderung, lebhaft rotierend; durchsichtig
Jungplutei	10 Uhr abends	1. IV.	10 Uhr abends	Blastulae, fast alle mit Zellhaufen im Innern, undurchsichtig geworden
Plutei	10 Uhr	2. IV.	9 Uhr	Blastulae wie am 1. IV. Nur 2 Keime haben gastruliert und bilden
		2. IV.	abends	Plutei
		4. IV.		Eine Anzahl Plutei. Die übrigen Blastulae, mit oder ohne Einstülpung

Zucht C.

Befruchtung . . .	1 Uhr 30 Min.	5. IV. 09	1 Uhr 30 Min.	Befruchtung
Rotierende Blastulae mit Mesenchymzelleneinwanderung . . .	5 Uhr morgens	6. IV.	6 Uhr morgens	Blastulae fangen an zu rotieren, fast alle durchsichtig, von gesundem Aussehen
Prisma	5 Uhr		10 Uhr 50 Min. abends	Keime erkrankt, mit Zellenhaufen im Innern. Blastulae mit geringer Einstülpung
Pluteus	9 Uhr	7. IV.	9 Uhr	Blastulae mit geringem Ansatz zur Gastrulation. Einzelne Prisma
			9 Uhr abends	Einige Jungplutei. Sonst Blastulae

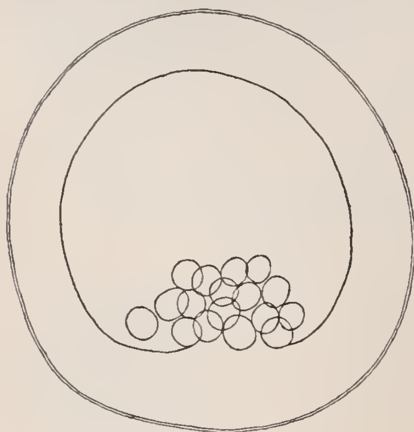
Zu diesen drei Versuchsreihen mit einigem Erfolg im Zuchtresultat der Plutei sei noch eine vierte gefügt. Fast alle Eier wurden befruchtet und entwickelten sich. Die damit gebotenen Aussichten auf Erfolg stehen in schärfstem Gegensatz zu dem wirklichen Ausgang des Experiments.

Zucht D.

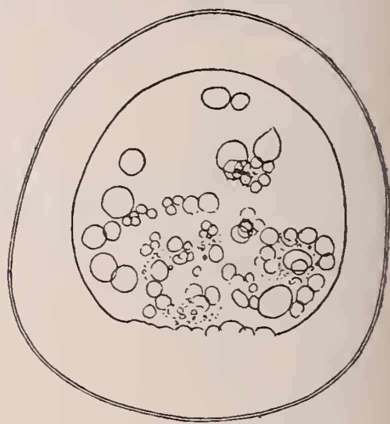
Kontrollkultur *Strong*				Bastardkultur
Befruchtung . . .	1 Uhr 30 Min.	1. XII. 08	1 Uhr 30 Min.	Befruchtung
Blastulae mit Mesenchymzelleneinwanderung . . .	11 Uhr 30 Min.	2. XII.	11 Uhr	Durchsichtige, lebhaft rotierende Blastulae von gesundem Aussehen, mit Mesenchymzelleneinwanderung
Gastrulae mit Mesenchymzellenring	3 Uhr			
Prisma	10 Uhr	3. XII.	10 Uhr	Blastulae durchsichtig, kränklich
Pluteus	12 Uhr	4. XII.	11 Uhr	Blastulae u. Gastrulae mit Zellhaufen im Innern, ziemlich undurchsichtig
		5. XII.	9 Uhr	Blastulae u. Gastrulae, ohne Skelet, krank
		6. XII.	12 Uhr	Die meisten Keime abgestorben. Die übrigen sind über das Gastrulastadium ohne Skelet nicht hinausgekommen und sterben im Lauf der nächsten Tage ab

Wie diese Protokolle zeigen, machen die Bastardkeime im Blastulastadium ein kritisches Stadium durch. Es ist oft äußerst überraschend zu sehen, wie innerhalb weniger Stunden (Zucht B) die Keime, die vordem ganz durchsichtig waren und lebhaft rotierend umherschwammen, undurchsichtig werden, sich mit Haufen degenerierenden Zellmaterials füllen und massenhaft auf dem Boden der Zuchtschale

herumliegen. Loeb charakterisiert dieselbe Erscheinung bei Seeigel-Seesternbastarden sehr treffend: »Man gewinnt den Eindruck, als ob

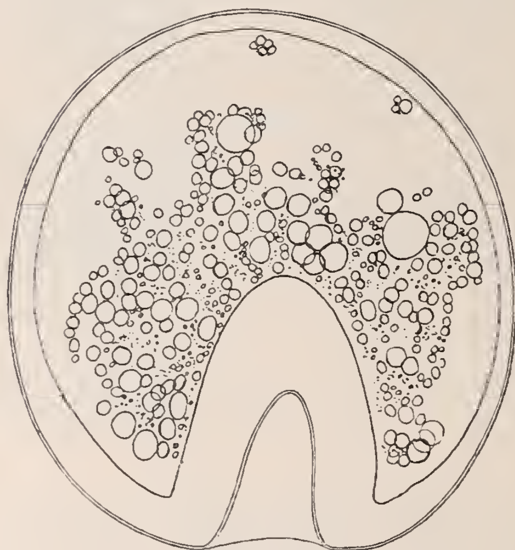


Textfig. XII.
Strong ♀ × *Arb* ♂. Vergr. 1/450.



Textfig. XIII.
Strong ♀ × *Arb* ♂. Vergr. 1/450.

die Kulturen dieser Larven plötzlich vergiftet worden seien« (1904, S. 348). In vielen Fällen, wofür Zucht D ein Beispiel gibt, ist damit die Entwicklung erledigt; Plutei entstehen nicht. Die Keime können als Stereoblastulae noch ein verschieden langes Leben führen und sterben in dieser Form oder mit einem Ansatz zur Gastrulation ab. In andern Fällen aber erholen sie sich, zum wenigsten unter sehr vielen Keimen einige und bilden ein regelmäßiges Skelet aus. Sie sind jedoch gegenüber der Kontrollkultur entschieden verspätet.



Textfig. XIV.
Strong ♀ × *Arb* ♂. Vergr. 1/450.

In Textfig. XII—XIV sind einzelne nach dem frischen Objekt ge-

zeichnete Stadien der Entwicklung abgebildet. Sie wurden durch geringen Formolzusatz zum Zweck des Zeichnens unbeweglich gemacht.

Textfig. XII zeigt einen Keim 22 Std. nach der Befruchtung vor Einsetzen der Erkrankung. Die Einwanderung der Mesenchymzellen hat eben begonnen.

Textfig. XIII zeigt ein frühes Stadium nach Beginn der Erkrankung, $26^1/_2$ Std. alt.

Textfig. XIV zeigt eine stark erkrankte Gastrula. Die Einstülpung ist nicht in typischer Weise durchgeführt worden; 47 Std. alt.

Driesch (1898) hat einige Angaben über die Entwicklung dieser Bastarde gemacht. Sie stimmen mit meinen Beobachtungen überein. Als die Kontrollkultur seines Versuchs (S. 75, l. c.) auf dem Stadium des Prismas stand, waren »nur ganz wenige Gastrulae im Beginn der Bilateralität« und am 3. Tag des Versuchs waren die Larven »körnig, nicht weiter brauchbar«.

Ein ähnliches Resultat erzielte auch Vernon. Er erhielt zwar Plutei; weitaus die meisten Keime aber starben als Blastulae (1898, S. 500).

2. Der Pluteus. In Fig. 12 (Taf. XXVII) ist ein Pluteus der Kombination *Strong* ♀ × *Arb* ♂ abgebildet. Das Skelet ist rein mütterlich. Die Analstäbe sind einfach, wie bei *Strong*, während *Arb* ähnlich wie *Sphaer* Gitterstäbe ausbildet. Die Scheitelstäbe sind keulenförmig, entsprechend denjenigen von *Strong*. Bei *Arb* dagegen verschmelzen die Scheitelstäbe zu einem Bogen, welcher, wie ich bei reinen *Arb*-Kulturen in Übereinstimmung mit Driesch (1898, Fig. 4) beobachtete, mit Höckern und Zacken besetzt ist. Ähnliche Angaben macht Vernon (1898, Fig. 18 u. 19). Ferner sei auf Joh. Müller (1855, Taf. II, Fig. 1—5) hingewiesen, nach dessen Angaben sich die Scheitelstäbe bogenförmig gegeneinander neigen, ohne jedoch zu verschmelzen. Nur Fischel (1906) hat, wie weiter oben (S. 543) schon berührt wurde, bei seinen in Villefranche gezogenen *Arb*-Plutei etwas andre Charaktere gefunden.

Im ganzen wurden 60[1]) Bastardplutei untersucht. Sie sind im folgenden kurz beschrieben:

36 Plutei sind in ihrem Skelet rein mütterlich. Die Scheitelstäbe bilden typische Keulen. Die Analstäbe sind einfach, jederseits einer; die Oralstäbe einfach, ohne Scheitelast.

[1]) Es können darunter einige Fälle sein, die zu den Ausnahmen gehören, welche weiter unten zur Besprechung gelangen werden und für die die Schlüsse, welche wir aus dem Skelet auf die Vererbungsrichtung ziehen werden, nicht gelten. Der Prozentsatz dieser Fälle kann im Vergleich zu den andern nur sehr gering sein.

Unter diesen Larven sind auch diejenigen miteinbezogen, deren Skelet einzelne geringe Defekte zeigte, in allen vorhandenen Stücken aber rein mütterliche Charaktere besaß.

Ferner wurden gefunden:

2 Plutei: Keulen typisch. Auf der einen Seite ein einfacher Analstab. Der Analstab der andern Seite fehlt.

3 Plutei: Scheitelstäbe einfach, nicht keulig verdickt. Jederseits ein einfacher Analstab.

5 Plutei: Skelet nur auf der einen Seite typisch ausgebildet: Scheitelstab keulenförmig oder unverdickt, einfach. Analstab einfach. Auf der andern Seite gar kein Skelet oder ein unregelmäßiger oder ein einfacher gerader Stab.

1 Pluteus: Keulen gut ausgebildet, stark gezackt. Keine Analstäbe.

1 Pluteus: Scheitelstäbe einfach, nicht keulenförmig; keine Analstäbe.

3 Plutei: Keulen der Scheitelstäbe typisch. Im Analarm der einen Seite zwei Analstäbe, wovon der zweite nur eine kurze Zacke. Auf der andern Seite ein einfacher Analstab.

1 Pluteus: Scheitelstäbe einfach, nicht verdickt. Auf der einen Seite zwei Analstäbe, auf der andern nur einer.

1 Pluteus: Keulen typisch ausgebildet. Je ein einfacher Analstab in jedem Analarm. Der Oralstab der einen Seite trägt einen kurzen, nach dem Scheitel hin gerichteten dorsalen Ast.

2 Pluteus: Skelet nur einseitig ausgebildet; Scheitelstab unverdickt, einfach. Analstab einfach. Oralstab mit kleinem Scheitelast.

1 Pluteus: eine der beiden Keulen etwas verzweigt. Je ein einfacher Analstab.

1 Pluteus: Scheitelstäbe mit Keulen, deren eine zwei große Seitenzacken trägt. Analarm nur auf der einen Seite ausgebildet mit zwei langen und einem kurzen Stab.

1 Pluteus: Scheitelstäbe mit Keulen, deren eine am oberen Ende etwas gegabelt. Jederseits ein einfacher Analstab. Dazu auf der einen Seite noch eine kurze Zacke.

1 Jungpluteus: Keule des einen Scheitelstabs typisch. Die andre Keule stark gezackt. Jederseits ein einfacher kurzer Analstab.

1 Jungpluteus: Skelet der einen Seite unregelmäßig. Auf der andern Seite ein unverdickter Scheitelstab und zwei Analstäbe.

1 Pluteus: Das Skelet ist in Fig. 13 (Taf. XXVII) abgebildet.

Das Alter der Plutei schwankte zur Zeit der Untersuchung zwischen 3 und 8 Tagen. Die Mehrzahl war 5 Tage, wenige nur 3 Tage alt. Man könnte den Einwurf vorbringen, daß die *Arb*-Merkmale erst später auftreten,

und nur aus diesem Grunde an den noch jugendlichen Larven nicht nachweisbar seien. Das Resultat an den 8 Tage alten Larven war jedoch dasselbe wie an den 5 Tage alten. Überdies erscheinen auch die 5tägigen völlig ausgewachsen, mit langen Armen und endlich haben die Keime reiner *Arb*-Kulturen am 3. Tag das Stadium des Jungpluteus, am 5. aber dasjenige des fertigen Pluteus erreicht. Ich halte aus diesen Gründen den Einwurf nicht für berechtigt. Überblicken wir die Gesamtheit der eintönigen Liste, so tritt durchgehend das Vorherrschen der mütterlichen Skeletcharaktere hervor. In mehr als der Hälfte aller Larven ist das Skelet von einem reinen *Strong*-Skelet nicht zu unterscheiden. Daneben kommen folgende Abweichungen vor: Die Scheitelstäbe können statt der kleinen auch bei *Strong* ausgebildeten Zacken deren größere tragen (drei Fälle) oder sogar etwas verzweigt sein (drei Fälle). Große Beachtung verdienen diese Abweichungen in Anbetracht ihres seltenen Vorkommens nicht. Auch betrafen sie immer nur einen der Scheitelstäbe. Wichtiger ist, daß in den Analarmen hier und da mehrere Analstäbe ausgebildet waren. Leider wurde eine eingehende Untersuchung der Kontrollkulturen am lebenden Material unterlassen, in der Erwartung, sie an Formol- und Osmiumsäure-Material nachholen zu können, was jedoch, wie in der Einleitung bemerkt, unmöglich war.

Doch sehen wir aus der Literatur, daß solche Abweichungen sich auch in reinen *Strong*-Kulturen zeigen, wie schon bei Anlaß der Bastardkombination *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ besprochen wurde. In unsrer Fig. 13 (Taf. XXVII) ist eines der vom *Strong*-Typus am meisten abweichenden Skelete abgebildet. Die eine Seite ist, abgesehen von den großen Zacken an der Scheitelkeule, normal. Auf der andern Seite sind drei kurze Analstäbe und ein verzweigter Scheitelstab vorhanden. Was jedoch an den Scheitelästen von der *Strong*-Form abweicht, ist keine charakteristische Annäherung an die Scheitelbogenform bei *Arb*; dagegen treffen wir ähnliche Verzweigungen regelmäßig bei *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂. Da hier natürlich nur *Arb*-Charaktere in Frage kommen können, so dürfen wir die Bildungen der Scheiteläste von Fig. 13 wohl ebenso gut als aberrante *Strong*-Charaktere, wie als *Arb*-Charaktere ansehen. Es bleibt nun noch die Anlage von drei und in ähnlichen Fällen von zwei Analstäben als Merkmal von *Arb* zu erörtern. Man kann darin ein *Arb*-Merkmal sehen. Um jedoch den Wert desselben für die Beurteilung der Vererbungsrichtung zu bestimmen, kommt als wesentlicher Punkt auch der Prozentsatz in Frage, in dem es unter einer größeren Zahl von Larven auftritt. Berücksichtigen wir von den in der Liste aufgeführten Plutei nur diejenigen, welche ausgebildete Analstäbe zum wenigsten auf der einen Seite besitzen, und suchen

wir unter diesen die Formen mit doppelten oder mehrfachen Analstäben heraus, so stehen sich gegenüber:

51 Plutei mit einfachem Analskelet;

7 Plutei, bei denen in einem Analarm, niemals aber in beiden, zwei oder drei Analstäbe ausgebildet sind.

Die außerordentliche Überlegenheit der Skelete von reinem *Strong*-Typus über die nicht ganz reinen liegt auf der Hand.

Noch eine kurze Bemerkung ist über die Scheiteläste der Oralstäbe zu machen, welche zu zwei Malen an dem Skelet der einen Seite gefunden wurden. Diese Bildungen werden bei *Arb*, nicht aber bei *Strong* angelegt[1]) und sind deshalb im Bastard wohl als *Arb*-Charakter zu betrachten.

Das Resultat, welches die Untersuchung der Plutei liefert, können wir folgendermaßen zusammenfassen:

Das Skelet der Bastardplutei *Strong* ♀ × *Arb* ♂ ist fast immer rein mütterlich. Nur in wenigen Fällen trägt es Charaktere, die als Anklänge an *Arbacia*, zum Teil wohl auch als Aberrationen ohne bestimmten Speciescharakter aufgefaßt werden können. Doch treten auch in diesen Fällen die *Strong*-Charaktere außerordentlich viel stärker hervor.

Aus der Literatur sind hier die Angaben von Vernon und Fischel zu besprechen. Vernon (1898): "The plutei themselves were of the *Strongylocentrotus* type, though they showed traces of their mixed origin. Thus in most of them, there was a short second anal arm skeleton and occasionally a third one" (1898, S. 500).

Fischel (1906): »Das Skelet der Bastardlarven *Strong* ♀ × *Arb* ♂ besitzt in Hinsicht auf seine Oral-, Anal- und Mittelstäbe zumeist ganz den mütterlichen Charakter. Die Enden der Scheitelstäbe aber weisen zahlreiche Varietäten auf, von denen viele eine Annäherung an den väterlichen Typus darstellen, indem das kolbige Ende mit kurzen Stacheln, wie bei *Arbacia*, besetzt oder unregelmäßig zersplittert ist« (S. 511). Da Fischels reine *Arb*-Plutei, wie schon weiter oben erwähnt (S. 543), auch keulenförmige, gerade Scheitelstäbe wie *Strong* und keinen Scheitelbogen besitzen, so sind die Unterschiede zwischen beiden Species in diesem Skeletteil nur gering. Die Größe der Stacheln ist auch bei *Strong* variabel und kann wohl kaum als sicheres Unterscheidungsmerkmal angesehen werden. Man vergleiche dafür die Bilder von Steinbrück (1902). Die Analstäbe der Fischelschen Bastarde dagegen sind rein mütterlich, und gerade hier ist die Differenz zwischen den elterlichen Species groß.

---

[1]) Vgl. Joh. Müller, 1855, Taf. II, Fig. 2 und 5. Vernon, 1898, Fig. 18.

Das Fazit der genannten Arbeiten ist somit von dem Resultat unsrer Versuche kaum verschieden. Die Ergebnisse FISCHELS sprechen für rein mütterliche Vererbungsrichtung, diejenigen von VERNON aber für die Möglichkeit geringen Hervortretens von väterlichen Eigenschaften. Die Größe der Kerne der Plutei ist im typischen Fall bedeutend geringer als diejenige der Kontrollplutei. Bevor ich jedoch darauf näher eingehe, möchte ich die Ergebnisse an den ersten Furchungsstadien mitteilen.

3. Die ersten Furchungsteilungen. Wir haben in Fig. 34 und 35 (Taf. XXIX) die *Arb*-Chromosomen schon nach Form und Zahl kennen gelernt. Ich wiederhole kurz das Resultat: Die Chromosomen sind von verschiedener, stets aber gegenüber den Elementen der andern Echiniden geringer Länge. Ihre Dimensionen bleiben bei der Mehrzahl der Elemente hinter denjenigen von *Sphaer* und *Strong* bedeutend zurück, wenn auch, vornehmlich bei *Strong* einige vorkommen, welche mit den längeren *Arb*-Chromosomen übereinstimmen. Außer stäbchenförmigen treffen wir hakenförmige und U-förmige Elemente. Die Zahl ist in den Furchungsspindeln 40, in jedem Vorkern 20.

Über die *Strong*-Chromosomen habe ich in einer früheren Arbeit (1909 a) eingehend berichtet. Regelmäßig finden sich in den Furchungsspindeln zwei lange Haken, von denen je einer aus einem Vorkern stammt. Die Chromosomenzahl ist bei *Strong* 36; auf jeden Vorkern entfallen 18.

In Fig. 37 *a* und *b* (Taf. XXIX) ist die Furchungsspindel aus einem ungeteilten Bastardei *Strong* ♀ × *Arb* ♂ abgebildet. Die beiden Teilbilder entsprechen den beiden Schnitten, auf welche sich die Chromosomen verteilen. Die obere Platte besteht aus 38, die untere aus 39 Elementen, wobei als richtiger Betrag 38 anzusehen ist. Diese Zahl liefert den Beweis, daß sämtliche Chromosomen, auch die Spermaelemente sich in typischer Weise geteilt haben. Eine Elimination ist nicht eingetreten. Dementsprechend wurden auch keine Eliminationsklumpen wie bei den *Sphaer* ♂-Kombinationen beobachtet.

Zu demselben Ergebnis gelangt man bei Betrachtung der Chromosomenform und Größe. Wir finden in Fig. 37 auf der linken Seite der Spindel lange Stäbchen, nach ihrer Länge als *Strong*-Chromosomen bestimmbar. Wir finden außerdem das für *Strong* charakteristische lange Hakenelement (Fig. 37 *b*, Mitte der Chromosomenplatten). Anderseits aber ist eine große Zahl von kurzen Stäbchen vorhanden (Fig. 37 *b*), die nach ihren geringen Dimensionen zu *Arb* gerechnet werden müssen. Ferner ist (Fig. 37 *a*, Mitte) ein U-förmiges Element vorhanden, auch *Arb* zugehörig.

Das Zahlenergebnis wurde an einer Reihe von Keimen, aus fünf Zuchten genommen, nachgeprüft. Infolge der Haken-, Häkchen- und

Hufeisenformen, die bei den Chromosomen vorkommen, sind die Schwankungen in den Resultaten nicht ganz unbedeutend.

Spindeln ungeteilter Eier: acht Zählungen:

	36	36[1]
	37	
	38	
	38	38
	39	37

Spindeln des 2-Zellenstadiums: vier Zählungen:

	36	37[2]
	36	
	39	
8-Zellenstadium:	35	
16-Zellenstadium:	40	
32-Zellenstadium:	38	37
Mittelwert aller Zählungen:		37,3.

Dieses Ergebnis stimmt mit der zu postulierenden Zahl 38 (20 *Arb*, 18 *Strong*) genügend gut überein.

Außerdem wurden in einer Äquatorialplatte aus einer Blastula mit geringer Erkrankung 35 Chromosomen gefunden.

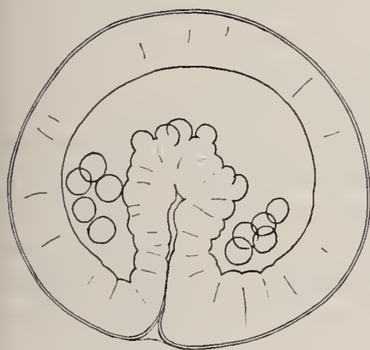
Resultat: In den Kernen des Bastardkeimes *Strong* ♀ × *Arb* ♂ ist bis zum Blastulastadium der ganze Chromosomenbestand des Eikerns und des Spermakerns enthalten. Eine Elimination von Chromosomen findet bis zu diesem Stadium nicht statt.

4. Kerngröße der Bastard-Blastulae. Damit steht nun auch die Kerngröße der Bastardblastulae und der jungen Gastrulae in Übereinstimmung, denn wenn wir die Größe der Bastardkerne und Kontrollkerne dieser Keime vor der Erkrankung vergleichen, finden wir nur einen geringen Unterschied, der sich dadurch zur Genüge erklärt, daß die Kerne in den reinen *Arb*-Keimen etwas kleiner sind wie in den *Strong*-Larven. In Textfig. XV und XVI sind die Kerne einer Bastard-Gastrula und einer *Strong*-Gastrula aus der in die Versuchsreihe (Kultur C, S. 552) gehörenden Kontrollzucht bei gleicher Vergrößerung (1 : 1960) neben-

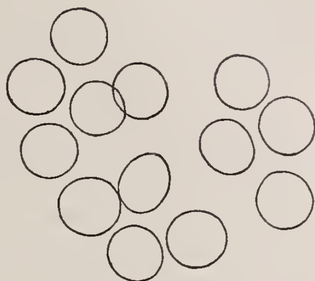
[1]) Die nebeneinanderstehenden Zahlen beziehen sich auf die beiden Tochterplatten der gleichen Spindel.

[2]) Die nebeneinander stehenden Zahlen beziehen sich auf den gleichen Keim.

einandergestellt. Die Keime selbst sind auch abgebildet, um das Entwicklungsstadium zu zeigen; sie wurden mit Pikrinessigsäure fixiert und mit Boraxkarmin gefärbt.



Textfig. XV*a*.

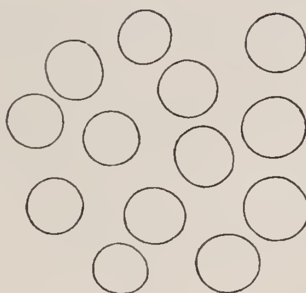


Textfig. XV*b*.

Textfig. XV*a*. Junge Bastardgastrula, *Strong* ♀ × *Arb* ♂, 24 Std. alt. Vergr. 1:490.
Textfig. XV*b*. Kerne von XV*a*. Vergr. 1:1960.
Textfig. XVI*a*. Junge *Strong*-Gastrula, 24 Std. alt. Vergr. 1:490.
Textfig. XVI*b*. Kerne von XVI*a*. Vergr. 1:1960.



Textfig. XVI*a*.



Textfig. XVI*b*.

In Gegensatz zu diesem Resultat stehen die Beobachtungen über die Größe der Kerne in den Bastardplutei. Diese sind im typischen Fall bedeutend kleiner als die Kerne der *Strong*-Kontrollplutei.

5. Die Kerngröße der Bastardplutei. In Fig. 14 (Taf. XXVII) sind die Kerne eines 8 Tage alten, wohlausgebildeten Bastardpluteus *Strong* ♀ × *Arb* ♂ und eines fertigen 3 Tage alten Pluteus der *Strong*-

Kontrollkultur nebeneinandergesetzt. Die Vergrößerung ist beide Male 1:2417. Die Kerne sind der Scheitelregion entnommen, wo abgeplattete Kerne verhältnismäßig selten sind und daher der Vergleich in dieser Beziehung keinem Fehler ausgesetzt ist. Zwischen den Bastardkernen und den Kontrollkernen ist eine außerordentlich deutliche Größendifferenz vorhanden: der Bastard besitzt viel kleinere Kerne.

Man könnte hier einwenden, daß nicht Plutei gleichen Stadiums verglichen wurden. Dem ist entgegenzuhalten, daß in der Bastardzucht der Pluteus infolge der Erkrankung später entwickelt wird. So hat der Keim von Fig. 14 trotz seines 8tägigen Alters erst seit 2 Tagen das Pluteusstadium erreicht, derjenige der Kontrolle seit 1 Tag. Der Unterschied ist somit nicht so sehr groß. — Überdies wurden aus der gleichen Kultur auch gleichalterige Larven vom 6. Tage verglichen und dieselben Größendifferenzen in den Kernen gefunden.

Einer andern Versuchsreihe, bei der auch der Einwurf verschiedenen Alters der Vergleichslarven nicht erhoben werden kann, sind die Fig. 15 *a* bis *d* (Taf. XXVII) entnommen. Außer den Kernen der Scheitelregion sind auch einige Mesenchymzellkerne abgebildet. Fixierung und Färbung wie bei den Objekten von Fig. 14.

Fig. 15*a*. *Strong*-Kontrollpluteus. Kerne der Scheitelregion. Die Larve ist 4 Tage alt.

Fig. 15*b*. *Strong*-Kontrollpluteus. Kerne aus Mesenchymzellen.

Fig. 15*c*. Bastard, 5 Tage alt. Kerne der Scheitelregion.

Fig. 15*d*. Bastard, Kerne aus Mesenchymzellen.

Gegenüber den in Fig. 14 abgebildeten Larvenkernen sind die Kerne der hier dargestellten Versuchsreihe alle etwas größer. Der typische, scharfe Unterschied zwischen den Bastard- und den Kontrollkernen besteht jedoch auch hier und gilt sowohl für die Scheitelregion als auch für die Mesenchymzellen.

In der beifolgenden Tabelle sind die Resultate der Kernmessungen an fünf Bastardplutei und vier Kontrollplutei einer Versuchsreihe zusammengestellt.

Bastardkultur	Kontrollkultur *Strong*
19,76	35,0
20,09	39,37
18,67	34,77
21,07	36,4
26,69	
Durchschnitt 21,26	36,38

Über die Gewinnung der Zahlen wurde an früherer Stelle (S. 511) berichtet. Hier sei nur wiederholt, daß die Zahlen das Verhältnis der Kernoberfläche geben, wobei sich alle Messungen auf Kerne der Scheitelregion beziehen, und daß die Zahlen Mittelwerte aus Einzelmessungen an jeweilen 15—20 Kernen darstellen. Das Durchschnittsresultat lautet: Die Oberfläche der Kerne des Bastardpluteus verhält sich zu derjenigen des *Strong*-Pluteus der Kontrolle wie 36:21.

Entsprechend der Beziehung zwischen Kernoberfläche und Chromatinmenge (Boveri, 1905) wären nach diesem Resultat in den Kernen der Bastardplutei nur etwa 21 Chromosomen enthalten. Es ist fraglich, ob man beim Vergleich zweier Species, die sich in der Größe der Chromosomen doch beträchtlich unterscheiden, von der Kerngröße ohne weiteres auf die Chromosomenzahl schließen darf. Jedenfalls ist zu berücksichtigen, daß die Kerne reiner *Arb*-Plutei etwas kleiner sind als die *Strong*-Kerne. Die Bastardkerne müßten nach den Erfahrungen an *Sphaer* ♀ × *Ech* ♂ in ihrer Größe zwischen *Strong* und *Arb* ungefähr die Mitte halten. Statt dessen aber stehen sie auch hinter den *Arb*-Kernen sehr stark zurück. So ist, wenn unsre Rechnung auch nur approximative Resultate lieferte, doch bewiesen, daß eine beträchtliche Verminderung an Chromatin stattgefunden haben muß.

Im Anschluß an dieses Ergebnis mögen auch einige Beobachtungen angeführt werden, welche geeignet sind, das aus der Kerngröße gewonnene Resultat zu bekräftigen. Dies sind vor allem zwei Chromosomenzählungen an Zellen jüngerer Plutei. Das eine Mal wurden 17, das andre Mal 19 Chromosomen gezählt. Allerdings kann infolge der Schwierigkeit des Zählens völlige Genauigkeit nicht verbürgt werden. Immerhin aber ist sicher, daß die Chromosomenzahl eine starke Verminderung bis auf ungefähr die Hälfte erfahren hat. Die unverminderte Zahl müßte 38 betragen.

Ferner sind hier die Messungen an Äquatorialplatten zu erwähnen. Daß man aus deren Dimensionen auf die Chromosomenzahl schließen darf, hat Boveri (1905, S. 34, Fig. 7—9) gezeigt. Nehmen wir die Dicke der Äquatorialplatten bei Bastard und Kontrolle vorerst als gleich an, so verhalten sich die Chromatinmengen wie die Oberflächen der Platten, also wie die Quadrate der Durchmesser. Aus 19 Messungen bei Bastardpluteis an Zeichnungen in 1250facher Vergrößerung wurde als mittlerer Durchmesser gefunden: 5,6 mm. Aus sechs Messungen an Kontrollpluteis: 6,7 mm. Die Quadrate dieser Zahlen verhalten sich wie 31,36 : 44,89, abgerundet und umgerechnet 25 : 36. Dieser Wert ist

für die Bastardplutei noch etwas zu hoch, denn die Äquatorialplatten sind in der Kontrolle etwas dicker wie im Bastard. Damit kommen wir nach dieser Methode zu einem ähnlichen Ergebnis wie mit der Messung der Kerngröße.

Wenn die Zahlenwerte aus den verschiedenen Messungsarten auch nicht völlig übereinstimmen, so liegt das wohl zum größten Teil an den bei den verschiedenen Methoden möglichen Fehlerquellen.

Das Resultat ist, zusammengefaßt, für die typischen Kulturen das folgende: Die Kerne der Bastardplutei *Strong* ♀ × *Arb* ♂ sind beträchtlich kleiner als die Kerne der reinen *Strong*-Kontrollarven. Sie enthalten nur etwas über die Hälfte des Chromatins.

6. Die Elimination[1]). Nach dem Ergebnis der Kerngrößenmessung muß es, bevor das Pluteusstadium erreicht wird, zu einer Elimination von Chromatin kommen. Dieselbe muß zwischen das Blastula- und Pluteus-Stadium fallen, da, wie wir sahen, die Bastard- und Kontrollblastulae und die ganz jungen Gastrulae noch annähernd gleich große Kerne besitzen.

Die Beobachtung des lebenden Objekts zeigt, daß während des Übergangs[2]) von Blastula zu Gastrula, oft innerhalb weniger Stunden, eine Erkrankung einsetzt. Die Vermutung liegt nahe, daß damit die postulierte Elimination zusammenhängt und in der Tat sprechen dafür gewichtige Gründe. Wenn die Erkrankung fortgeschritten ist, finden wir in den Zellen der Wandung neben oft sehr zahlreichen pathologischen ganzen Kernen kleine Chromatinkörper. Diese scheinen dadurch zu entstehen, daß ein Teil des Chromatins aus den Kernen ausgestoßen wird, denn wir finden bei genauer Durchmusterung von Schnitten Kerne, die allem Anschein nach gerade in der Ausstoßung von Chromatin begriffen sind. Im Innern der Keime finden sich neben wenigen gesunden sehr zahlreiche kranke Kerne, außerdem wie in der Wandung jene kleinen Chromatinkörper. Ich habe mich bei dieser Untersuchung außer an HEIDENHAIN-Präparate auch an Serien gehalten, die mit Boraxkarmin oder Safranin gefärbt worden waren, um irgendwelcher Täuschung durch die HEIDENHAINsche Eisenlackfärbung zu entgehen.

---

1) Über den Terminus »Elimination« vgl. S. 528.

2) Die Stadien von Blastula und Gastrula sind hier sehr oft nicht genau auseinander zu halten. Oft wird noch ein Knopf von Mesenchymzellen gebildet, der in die Blastulahöhle weit hineinragt, ohne daß es jedoch weiter zu einer richtigen Gastrulation kommt. Textfig. XV bezieht sich auf eines der spätesten, noch gesund angetroffenen Stadien.

In Fig. 16 (Taf. XXVII) ist eine nicht sehr stark erkrankte Gastrula abgebildet, mit Heidenhains Eisenhämatoxylin gefärbt. Der Schnitt ist nicht genau sagittal getroffen. Die Mehrzahl der Kerne, von denen nicht alle eingezeichnet werden konnten, ist gesund. Außerdem sind in der Wandung, wie in den Zellen im Innern der Gastrula, kranke, chromatinreiche, oft total schwarz gefärbte Kerne zu sehen. Endlich bemerkt man besonders in der Basis der Gastrula neben normalen Kernen im Plasma jene kleinen Chromatinbrocken.

In Fig. 17 (Taf. XXVII) ist ein Stück eines Schnittes aus der Wandung einer jungen, kranken Gastrula stärker vergrößert gezeichnet: Neben drei normalen Kernen liegt, was betont sei, mitten im Plasma und nicht an einer der beiden Schnittflächen, ein kleinerer Chromatinklumpen.

Diese abgebildeten Beispiele geben kein hohes Maß der Erkrankung. Sehr oft ist sie so viel stärker ausgeprägt, daß im ganzen Keim nur wenige gesunde Kerne zu finden sind. Fig. 18 (Taf. XXVII) gibt ein Wandungsstück aus einer stark erkrankten Blastula, von der Fläche gesehen: alle Kerne sind krank.

In Fig. 19 und 20 sind noch zwei Details abgebildet: In Fig. 19, einem Boraxkarminpräparat entnommen, ein Stück aus einer Blastulawand mit vier Kernen, zwei gesunden, einem kranken stark gefärbten und einem vierten, der allem Anschein nach im Begriff ist, Chromatin auszustoßen. In Fig. 20 *a* und *b* sind zwei im Blastula-Innern befindliche Zellen abgebildet: Fig. 20 *a* (Heidenhain) hat einen total kranken Kern; Fig. 20 *b* (Boraxkarmin) enthält außer dem Kern noch einen im Plasma liegenden kleinen Chromatinbrocken.

In ihrem Aussehen sind die kranken Kerne meiner Bastardkeime denjenigen sehr ähnlich, die Boveri (1907) in dispermen Keimen beschrieben hat. So läßt sich vorliegende Fig. 18 mit der Bovérischen Fig. 93; Fig. 20 *a* mit Fig. 86 und Fig. 16 mit Fig. 77 vergleichen.

Große Chromatinansammlungen, wie sie für *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ typisch sind, wurden niemals beobachtet.

Fassen wir unsre Beobachtungen zusammen, so sind folgende Punkte hervorzuheben:

a) Der Hauptbeweis dafür, daß eine Elimination eintritt, liegt in der Verminderung der Kerngröße, welche zwischen dem Blastula- und dem Pluteusstadium stattfindet. Außerdem sind in hohem Grade beweisend die am Pluteus durchgeführten approximativen Chromosomenzählungen.

b) Daß die Elimination im Blastula- oder im frühen Gastrulastadium einsetzt, wird durch folgende Erscheinungen sehr wahrschein-

lich gemacht: Bis zu diesem Stadium sind die Kerne von Bastard- und Kontrollkultur ungefähr gleichgroß. Die Keime sind gesund. Dann tritt, oft ganz plötzlich eine Erkrankung der Keime ein. Zahlreiche Kerne werden pathologisch. Neben ihnen lassen sich im Plasma kleinere Chromatinbrocken nachweisen. Außerdem finden sich zuweilen Kerne, welche anscheinend in der Ausstoßung von Chromatin begriffen sind.

Es muß zugegeben werden, daß die Interpretation solcher Ausstoßungsstadien unsicher ist, deshalb, weil pathologische Kerne überhaupt formveränderlich sind. Die regelmäßige kugelige Gestalt geht mit der Erkrankung verloren; wunderliche Auswüchse bilden sich; man vergleiche dazu die Bilder kranker Kerne bei Boveri (1907). Aber auch wenn diese Interpretation unrichtig wäre — die Annahme einer Elimination würde dadurch nicht erschüttert, sondern nur die Vorstellung über die Art, wie sie erfolgt. Es wäre möglich, daß die Elimination während der Mitose stattfände. Die Untersuchung lieferte allerdings dafür keine Anhaltspunkte.

Es ist auf Grund der gegebenen Tatsachen schwer zu entscheiden, ob die Erkrankung der Kerne aus Ursachen einsetzt, die in den Kernen selbst liegen, oder erst infolge pathologischer Veränderung des Plasmas, welche wir nicht nachweisen können. Nur das eine sei betont, daß die Erkrankung der Kerne zu beobachten ist, sobald überhaupt die Erkrankung des Keimes deutlich sichtbar wird und daß sie schon in frühen Stadien — 28 Stunden nach der Befruchtung — wahrgenommen werden kann.

Ferner werden wir, was im allgemeinen Teil dieser Arbeit wird besprochen werden, im Zeitpunkt der Erkrankung ein Kriterium finden, das in hohem Maße für die Erkrankung aus Ursachen spricht, die in den Chromosomen liegen.

Schon zu Anfang des Kapitels wurde betont, daß die Plutei in ihrem Skelet vielfach rein mütterliche Charaktere zeigen. Diese Tatsache erscheint jetzt in wesentlich verändertem Licht. Wie wir gesehen haben, geht bei den *Sphaer* ♂-Bastarden die Ausbildung rein mütterlicher Skeletcharaktere mit der Elimination fast sämtlicher väterlicher Chromosomen parallel. Bei dem jetzt vorliegenden Bastard wurde ebenfalls eine Elimination von Chromatin durchaus wahrscheinlich gemacht. Freilich war ein Nachweis der väterlichen Abkunft desselben nicht durchführbar.

Immerhin können wir zwischen beiden Bastardfällen eine Parallele ziehen in Hinsicht auf Skelet und verringerte Kerngröße des Pluteus. Ferner ist schon von vornherein eine Elimination der väterlichen Chromosomen aus dem ihnen fremden Plasma der andern Art wahrscheinlicher als die Elimination mütterlicher Chromosomen, welche nicht aus ihrem

zugehörigen Plasma verpflanzt wurden. Aus diesen Erwägungen heraus wird es höchst wahrscheinlich, daß auch im *Arb*-Bastard das väterliche Chromatin eliminiert wird. Wir werden auf diese Punkte im allgemeinen Teil noch zurückkommen.

Nachdem wir nun zur Ansicht gekommen sind, daß im Bastard *Strong* ♀ × *Arb* ♂ nur *Arb*-Chromatin eliminiert wird, ist es möglich, ungefähr festzustellen, ob alles *Arb*-Chromatin ausgeschaltet wird oder ob ein Teil in den Kernen verbleibt und auch im Pluteus noch vorhanden ist, wie es bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ der Fall war. Die Messungen an den Kernen der Plutei zeigten, daß sich die Chromatinmenge der Kerne des Bastardpluteus zu derjenigen des Kontrollpluteus verhielt wie 36 : 21; zwei Chromatinzählungen an Spindeln eines Bastardpluteus lieferten approximativ die Zahlen 17 und 19. Die Chromosomenzahl bei *Strong* ist 36. Jeder Vorkern enthält 18 Elemente, also gerade soviele, wie auch in diesen Pluteusspindeln enthalten waren. Darnach hat es den Anschein, als ob in den Kernen der Bastardplutei nur mehr mütterliches Chromatin vorhanden ist. Die Messungen der Kerngrößen, welche vielleicht maßgebender sind, liefern bei genauerer Betrachtung das gleiche Resultat. *Strong* übertrifft *Arbacia* hinsichtlich der Chromatinmenge nicht unwesentlich, wie der Vergleich von Chromosomentochterplatten beider Species zeigt. Ich verweise bezüglich *Strong* auf Bilder meiner früheren Arbeit (1909a, Fig. 11), wobei gesagt sei, daß die Vergrößerung nur wenig höher ist (1 : 3480) wie bei der in vorliegender Schrift gegebenen Abbildung der *Arbacia*-Chromosomen (Fig. 34, Tafel XXIX, Vergr. 1 : 3226). Dem Gesagten entspricht es, daß, wie schon weiter oben erwähnt wurde, die Kerne der *Arb*-Blastulae und *Arb*-Plutei etwas kleiner sind als diejenigen der entsprechenden *Strong*-Stadien.

Die Folgen des Unterschieds in der Chromatinmenge und der Kerngröße der beiden Species für die Vergleichung des Bastards sind leicht zu verstehen. *Strong* wird *Arb* im Furchungskern des Bastards von vornherein hinsichtlich der Chromatinmenge überlegen sein. Daher wird bei der Elimination, auch wenn alles *Arb*-Chromatin ausgestoßen wird, ein Kern übrig bleiben, welcher seiner Chromatinmenge nach mehr als das halbe Volumen des Bastardkerns besitzt, den man sich ohne Elimination denken müßte. D. h. aus der Kerngrößenmessung wird sich nicht genau die Proportion 36 : 18 ergeben, sondern eine andre, welche der wirklich erhaltenen 36 : 21 näher kommt. Wir kommen so zu dem Resultat, daß mit Wahrscheinlichkeit in den Kernen der Bastardplutei kein *Arb*-Chromatin mehr enthalten ist, daß es also im Blastulastadium völlig eliminiert wurde.

Bevor ich die Beschreibung der typischen Fälle von *Strong* ♀ × *Arb* ♂ verlasse, muß ich noch einen Einwand besprechen, der gegen die Deutung der beschriebenen Beobachtungen erhoben werden könnte. Es ist bekannt, daß die Echinideneier in alkalischem Seewasser nicht selten zur Parthenogenese angeregt werden. Außer von LOEB (1904) wird dies auch von GODLEWSKI erwähnt. Dieser sagt sogar (1906, S. 583): »Nach meiner Erfahrung muß man darauf bestehen, daß bei jedem Experiment Kontrollversuche angestellt werden. Bekanntlich hängen die Resultate der Experimente über künstliche Parthenogenese in hohem Grade von der individuellen Beschaffenheit des Materials ab; wiewohl man mehrfach feststellen kann, daß die betreffende Alkalinitätskonzentration der Flüssigkeit keine Entwicklung hervorzurufen imstande ist, so kann man doch nicht von vornherein sicher sein, daß dies für alle Fälle gelten wird.« Man wird nach dieser Angabe mit der Möglichkeit rechnen müssen, daß alle oder die meisten Keime, die bis zum Pluteusstadium gelangen, sich parthenogenetisch entwickelten. Sie müßten auch in diesem Falle kleine Kerne und natürlich rein mütterliches Skelet besitzen.

Für eine ganze Reihe von Larven kann man jedoch von vornherein die Entwicklung aus wirklich kreuzbefruchteten Eiern als wahrscheinlicher betrachten. Es sind jene, welche noch im Pluteusstadium die von der Erkrankung der Blastula herrührenden Ballen degenerierter Zellen besitzen.

Die von GODLEWSKI verlangte Kontrolle habe ich nur für einen Teil der Versuche durchgeführt, da mir im Anfang des Experimentierens die charakteristische Erkrankung eine genügende Gewähr zu bieten schien. Als ich später diese Kontrolle doch eingeführt hatte, bekam ich bei den wenigsten Kulturen Plutei. Eine der erfolgreichen Zuchten will ich kurz beschreiben. Das *Strong*-Eimaterial wurde in drei Portionen geteilt. Portion 1 wurde mit Samen der eigenen Species befruchtet und lieferte am 3. Tag Plutei. Portion 2 wurde auf $1^1/_2$ Std. in alkalisches Seewasser[1]) gebracht und dann mit *Arb*-Samen befruchtet. Sie lieferte am 3. Tag einen, am 4. Tag noch eine Anzahl Plutei. Alle, auch der 3tägige, bei dem offenbar keine die Entwicklung wesentlich verzögernde Krankheit eingesetzt hatte, besaßen verkleinerte Kerne.

Portion 3 verblieb $3^1/_2$ Std. im alkalischen Seewasser und wurde vor der Befruchtung auf Furchungsstadien durchgesehen. Dabei wurden drei unregelmäßig gefurchte Keime gefunden, isoliert und am nächsten Morgen kontrolliert: alle drei hatten nach einigen unregelmäßigen Furchungen die Entwicklung eingestellt. Das durchgesehene und von partheno-

---

[1]) 2,25 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH auf 100 ccm Seewasser.

genetischen Keimen gereinigte Eimaterial wurde mit *Arb*-Sperma besamt. Zahlreiche Eier entwickelten sich. Am 4. Tag wurden sieben ausgewachsene Plutei beobachtet, vier davon waren im Skelet rein mütterlich; die drei andern zeigten Aberrationen.

Portion 3 beweist also, worauf es vor allem ankommt, daß sicher kreuzbefruchtete Eier typische, rein mütterliche Plutei geben können. Weiter zeigt sie, daß die Neigung zu Parthenogenese bei dem zu dieser Kultur verwendeten Eimaterial nur unbedeutend ist (vgl. Loeb 1904) und die Wahrscheinlichkeit nur gering, daß sich unter den nicht kontrollierten Eiern von Portion 2 eines auf parthenogenetischem Wege zu einem Pluteus entwickelt hat, auch nicht dasjenige, welches das Pluteusstadium schon am 3. Tage erreichte.

Bei manchen andern Kulturen, die nicht in obiger Weise genau auf Parthenogenese kontrolliert wurden, läßt sich diese doch auf Grund der Versuchsbedingungen mit Wahrscheinlichkeit ausschließen. Nämlich dann, wenn die Zahl der befruchteten Eier eine geringe war. Dann hätte man bei der Durchsicht der Kultur nach der Befruchtung und der Untersuchung der Bastardspindeln, deren eine verhältnismäßig hohe Zahl geprüft wurde, auf die parthenogenetischen Keime stoßen müssen.

So kommen wir zu dem Ergebnis, daß die Möglichkeit der Parthenogenese zwar nicht in allen Fällen auszuschließen ist, daß sie aber die Zuverlässigkeit unsrer Resultate an den Bastardplutei nicht beeinträchtigt und nur eine unwesentlich kleine Rolle gespielt haben kann.

II. Ausnahmen.

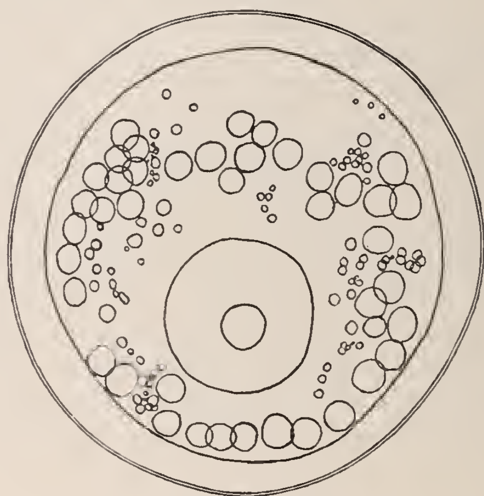
Es gibt Ausnahmen in zwei Richtungen. Ich nenne zuerst die in verschiedenen Kulturen vorkommenden Keime, welche ihre Entwicklung ohne oder mit nur geringer Erkrankung durchlaufen. Die Blastulae bleiben durchsichtig, gastrulieren ohne Schwierigkeit, bilden den charakteristischen Mesenchymzellenring. Eine solche Larve, im Stadium der Gastrula, ist in Textfig. XVII (S. 570) abgebildet. Zwischen den Mesenchymzellen, die sich zum Ring geordnet haben, finden sich kleine Granula, wahrscheinlich Reste degenerierter Zellen, das einzige Zeichen einer geringen Erkrankung. Eine andre der abgebildeten ähnliche Larve zeigte ebenfalls den typischen Mesenchymzellenring, ohne jegliche granulöse Reste.

Diese Larven erreichen das Pluteusstadium wenig später (etwa 12 Std.) als die Kontrollarven. Sie bilden rein mütterliches Skelet aus und haben kleine Kerne. Einzelne sind, wie oben erwähnt, möglicherweise auch

in die Übersicht auf S. 555 aufgenommen worden, da nicht bei allen Larven die Entwicklung kontinuierlich verfolgt werden konnte. Sie kommen jedoch nur in sehr geringer Anzahl vor.

Zur Erklärung werden wir in erster Linie an individuelle Verschiedenheiten bei der Erkrankung zu denken haben. Für die Individuen ohne jede Krankheitserscheinung aber dürfte eine solche Erklärung nicht genügen. Hier sind auch andre Entwicklungsmöglichkeiten zu berücksichtigen:

a) Parthenogenetische Entwicklung. Dieselbe muß wohl in seltenen Fällen als möglich angesehen werden. Die dabei entstehenden Larven



Textfig. XVII.
Strong ♀ × *Arb* ♂. 38 Stunden alt. Nach d. frisch. Obj. gez. Vergr. 1:450.

müßten rein mütterliches Skelet zeigen und kleine Kerne besitzen, vorausgesetzt, daß die parthenogenetische Entwicklung ganz regelmäßig verlaufen wäre.

b) Entwicklung kreuzbefruchteter Eier ohne Beteiligung des Spermakerns. Das Spermacentrum verhält sich dabei wie gewöhnlich. Die Strahlungen sind auf seine Wirksamkeit zurückzuführen. Hier ist besonders auf eine Kultur hinzuweisen, deren Eier fast alle befruchtet wurden, in denen aber die Spermakerne während der Mitose untätig blieben. Sie lagen meistens im Bereich der einen Sphäre, zuweilen auch im Äquator der Spindel. Die auf diese Weise zustande kommenden Bilder entsprachen durchaus den Abbildungen, die Teichmann (1903, Fig. 10—12) nach Präparaten Boveris (vgl. Boveri, 1888) gegeben hat. Übrigens setzte bei vielen Eiern dieser Kultur keine Spindelbildung ein.

Man sah dann noch 3 Std. nach der Befruchtung außer dem Eikern einen mit Essigkarmin tief rot gefärbten Körper, den Spermakern, im Plasma liegen.

Zuweilen mag der Spermakern in die Spindeln des ungeteilten Eies oder des Zweizellen-Stadiums noch mit eingetreten sein. Wenigstens lassen Fälle, wo er während der ersten Metaphase in der Auflösung begriffen war, solches vermuten. Es ist aber auch denkbar, daß er überhaupt am Teilungscyclus nicht teilgenommen hat und während der Furchung degenerierte. Aus allen diesen Eiern würden ohne Erkrankungsstadium Plutei mit rein mütterlichen Skeletcharakteren und kleinen Kernen hervorgehen.

Daß eine solche Entwicklung möglich ist, machen die Untersuchungen von Loeb und Kupelwieser wahrscheinlich. Loeb (1908) hat Eier von *Strongylocentrotus franciscanus* mit Samen von *Chlorostoma*, einer Molluskenspecies befruchtet. Die Furchung »dieser Hybride verlief völlig normal, sowohl in bezug auf die Geschwindigkeit der Furchung als auch in bezug auf die Form der Furchung« (S. 480). Weiter stellte sich heraus, daß »diese Larven faktisch alle sich zu völlig normalen Pluteen entwickelten«. Loeb »erhielt in diesem Versuche viele Tausende völlig normaler Pluteen«. »Die Larven sind ausnahmslos rein mütterlich« und »in vollkommen gesundem und normalem Zustande« (S. 481). Loeb gibt neben der Beschreibung dieser Entwicklung keine cytologische Untersuchung. Eine solche aber finden wir bei Kupelwieser (1909), der ebenfalls Echinideneier mit Molluskensperma befruchtete: *Echinus microtuberculatus* ♀ × *Mytilus galloprovincialis* ♂. »Nachdem der Spermakern seine entwicklungserregende Tätigkeit im Ei entfaltet hat, wird er ausgeschaltet« (S. 458). Er nimmt an der Mitose nicht teil, sondern degeneriert. Die Larven sind nach Kupelwieser normale Plutei von rein mütterlichem Charakter. Wir dürfen nach diesem Resultat wohl auch bei dem Loebschen Experiment und möglicherweise bei unsern in Rede stehenden Ausnahmen eine Entwicklung ohne Beteiligung des Spermakerns annehmen.

Wichtiger sind eine Reihe andrer Ausnahmen. Es fanden sich ganz selten in den typischen Kulturen und in einer Kultur in größerer Anzahl Plutei mit großen Kernen, trotzdem aber mit mütterlichem, zuweilen auch mit aberrantem Skelet. Ich stelle im folgenden eine Tabelle (S. 572—573) zusammen, um ein Bild der Verhältnisse dieser Ausnahmen gegenüber dem typischen Fall zu geben. Aufgenommen sind alle diejenigen Plutei, welche in Hinsicht des Skelets, sowie der Kerngröße untersucht wurden. Hinzugefügt sind ferner Beobachtungen an den ersten Furchungsstadien

Kultur	Larvenform und Korngröße[1])	Skelet	Untersuchung der ersten Furchungsstadien	Blastula
I.	9 Plutei untersucht: Kerne stets typisch verkleinert	Unter 14 Plutei 13 mit typisch mütterlichem Skelet. Eines abweichend, in Fig. 13 (Taf. XXVII) abgebildet	In einem 2-Zellenstadium 37 Chromosomen gezählt	
II. (C)[2])	11 Plutei untersucht: Kerne stets typisch verkleinert. 2 Plutei mit Ballen degenerierter Zellen (Eliminationsreste) In 2 Plutei etwa 18 Chromosomen gezählt	Skelet rein mütterlich	In 2 Keimen 35 und 36 Chromosomen gezählt	In den Zellen der Blastulae oft kleine Chromatinbrocken gefunden
	2 Plutei: Kerne typisch verkleinert Die Leibeshöhle des einen Pluteus mit kranken Zellen gefüllt	Auf der einen Seite 2 Analstäbe. Das übrige Skelet mütterlich		
	1 Pluteus: Kerne typisch verkleinert	Auf der einen Seite 3 Analstäbe, sonst mütterlich		
III.	2 Plutei untersucht: Kerne typisch verkleinert	Skelet typisch mütterlich		6 junge Blastulae untersucht. Kerne gleich groß wie bei den *Strong*-Kontrollblastulae. Ältere Blastulastadien heftig erkrankt. Elimination in manchen Fällen nachweisbar (Chromatinbrocken)
IV. (B)	7 Plutei untersucht: Kerne typisch verkleinert	Skelet typisch mütterlich		
	1 Pluteus: Kerne nicht typisch, aber immerhin verkleinert. In der Leibes-	Skelet sehr unregelmäßig, stark aberrant. Mehrere		

V. (A)	1 Pluteus mit stark vergrößerten Kernen (größer als bei *Strong*-Plutei)	Skelet ganz abnorm		Junge Blastula mit gleich großen Kernen wie Kontrollkultur. Spätere Blastulae erkrankt
VI.	1 Pluteus: Kerne gleich groß wie im *Strong*-Pluteus	Auf der einen Seite 3, auf der andern 2 Analstäbe, Skelet sonst mütterlich	In einem Keim 35 Chromosomen gezählt	Junge Blastulae mit gleich großen Kernen wie Kontrollblastulae, ältere Blastulae alle erkrankt
VII.	2 Gastrulae ballonartig aufgetrieben. Kerne größer als in der *Strong*-Kultur, große Haufen degenerierter Zellen im Gastrocoel	Skelet ganz unregelmäßig		
	1 Pluteus: Kerne fast gleich groß wie in der *Strong*-Kontrollkultur In der Leibeshöhle degenerierte Zellen	Skelet typisch mütterlich		
VIII.	3 Plutei: Kerne größer oder gleich groß wie in der Kontrollkultur In 2 dieser Larven große Ballen degenerierter Zellen	Skelet typisch mütterlich	In 2 Eiern 36 und 37 Chromosomen gezählt Zuweilen Monaster in parthenogenetisch erregten Eiern Häufig partielle Befruchtung: In 2 Eiern 18 Chromosomen gezählt	
IX. (D)			In zahlreichen Fällen 35 bis 40 Chromosomen gezählt	Junge Blastulae gesund; ältere alle erkrankt

[1]) Unter »typisch verkleinert« sind die Kerngrößen verstanden, nach denen auf vollständige Elimination des *Arbacia*-chromatins geschlossen werden darf.

[2]) Die Buchstaben beziehen sich auf die in ihrem Entwicklungsverlauf besprochenen Zuchten (S. 551 ff.)

und den Blastulis der in Frage kommenden Kulturen, sowie Notizen über das Vorhandensein von Ballen degenerierter Zellen in der Leibeshöhle der Larve. Die Beobachtungen sind freilich unvollständig, da ich erst am Ende der experimentellen Untersuchung zu einem Überblick dieser verwickelten Verhältnisse gelangte.

Die Kulturen I—III mit 25 Pluteis übergehe ich: sie zeigen außer einigen Abweichungen im Skelet die typischen Verhältnisse. In Kultur IV sind acht Plutei ebenfalls typisch. Interessant ist hier jedoch ein Fall, der sich in Kultur VI wiederholt: Diese Larven besitzen Kerne, deren Größe nur wenig hinter derjenigen der Kontrollkultur zurückbleibt, oder dieselbe erreicht. Das Skelet ist bei Fall IV abnorm, bei Fall VI zeigt es in beiden Analarmen mehrfache Analstäbe. Wir dürfen vielleicht vermuten, daß in diesen Larven das *Arb*-Chromatin in den Kernen verblieb, wodurch deren Größe verursacht ist, und dann wäre es wohl denkbar, daß die Anwesenheit des *Arbacia*-Chromatins die Ausbildung von Skeletabnormitäten oder starken Abweichungen vom *Strong*-Typus zur Folge hatte, möglicherweise auch Anklänge an den Skelettypus von *Arb* (Fall VI) hervorrief.

Dieselbe Erklärung läßt sich, jedoch mit größerer Schwierigkeit, auf die folgenden Fälle anwenden, welche durch rein mütterliches Skelet und große Kerne charakterisiert sind. Es handelt sich um den Pluteus von VII und die drei Plutei von VIII. Auch hier wäre nach dieser Auffassung das *Arb*-Chromatin nicht eliminiert worden, sondern in den Kernen noch enthalten, jedoch in völlig passivem Zustande, so daß es auf die Gestaltung des Skelets keinen Einfluß auszuüben vermochte. Wir werden in einem der folgenden Kapitel sehen, daß diese Erscheinung bei Bastarden zwischen Echiniden (♀) und Crinoiden (♂) die Regel ist. Es scheint übrigens auch im typischen Fall das *Arb*-Chromatin in einzelnen Kernen verbleiben zu können. Unter den kleinen findet man hier und da einen größeren Kern, der das *Arb*-Chromatin wohl noch enthält. Wie aus der Tabelle hervorgeht, können die Ausnahmelarven (Kultur V—VII und VIII) sogar größere Kerne haben, als nach der Summe von *Strong*- und *Arb*-Chromatin zu erwarten wäre. Große Bedeutung dürfen wir dieser Tatsache wohl kaum zumessen, da mit der Erkrankung eines Kernes oft eine Vergrößerung über das Normalmaß Hand in Hand geht, wie auch Boveri (1907) an dispermen Larven beobachtet hat.

Eine andre Erklärung, die besonders für die Plutei[1]) von VII und VIII

[1]) Auf die Gastrulae von VII mit aberrantem Skelet brauche ich wohl nicht einzugehen.

mit typisch mütterlichem Skelet größere Wahrscheinlichkeit beanspruchen dürfte, ist im folgenden kurz erläutert. Es wäre möglich, daß sich die Eier parthenogenetisch oder ohne Beteiligung des Spermakerns entwickelt hätten, daß aber nicht sogleich eine Furchungsspindel, sondern zuerst ein Monaster ausgebildet wurde. Dadurch käme eine Verdoppelung der Chromatinmenge zustande (vgl. WILSON, 1901, S. 547 und M. BOVERI, 1903). Die entstehende Larve würde nur *Strong*-Chromatin, dabei aber große Kerne besitzen, ja, sie würde sogar (vgl. Kultur VII und VIII, ev. auch V) größere Kerne haben, als man bei Zusammenrechnung von *Strong* ♀-Chromatin und *Arb* ♂-Chromatin erwarten müßte, denn *Arb* steht an Kerngröße hinter *Strong* etwas zurück.

Zugunsten dieser Erklärung lassen sich einige Beobachtungen anführen. HERBST (1907) hat an parthenogenetisch zur Entwicklung angeregten Eiern sehr oft die Ausbildung von Monastern beobachtet. Ich selbst konnte das gleiche gerade bei jener Kultur VIII feststellen, welche drei großkernige Plutei lieferte. In eben diesem Material zeigte sich auch eine auffallende Passivität des Spermakerns und seines Centrosoms. So beobachtete ich an einem Ei neben einem aus dem Monaster hervorgegangenen Kernbläschen mit zwei sich entwickelnden kleinen Strahlungen drei unentwickelte Spermakerne. Von Sphären, welche zu demselben hätten gehören können, war nichts zu sehen. Daß es sich hierbei wirklich um einen Monaster handelte, ergibt sich daraus, daß die bastardbefruchteten Eier, welche sich normal entwickelten, zur selben Zeit, $2^3/_4$ Std. nach der Befruchtung, schon Zweizellen-Stadien mit Spindeln in Metaphase gebildet hatten. — Drei der in Rede stehenden Plutei enthalten bedeutende Ballen degenerierter Zellen in ihrer Leibeshöhle[1]). Dies deutet darauf hin, daß die Entwicklung nicht völlig normal verlief. Mit der Annahme eines Monasterstadiums läßt sich das wohl vereinbaren, denn nach BOVERI (1905) hat die Monasterbildung oft anormale Entwicklung zur Folge.

Fassen wir zusammen, so können wir uns über die Entwicklung und die Vererbungsrichtung des Bastards *Strong* ♀ × *Arb* ♂ folgendes Bild machen:

1. Vorerst scheiden wohl jene ziemlich seltenen Keime aus, in deren Entwicklung keinerlei Erkrankung stattfindet und welche Plutei mit verkleinerten Kernen liefern. Sie beziehen sich allem Anschein nach auf

---

[1]) Für den vierten besitze ich darüber keine Angabe.

parthenogenetische Eier oder auf solche kreuzbefruchtete, die sich ohne Beteiligung des Spermakerns furchen.

2. In den andern Fällen ist die Entwicklung, von den sub 3 erwähnten Ausnahmen abgesehen, mit einer wahrscheinlich vollständigen Elimination des väterlichen Chromatins im Blastula- oder frühen Gastrulastadium verbunden. Die Plutei besitzen kleine Kerne und fast immer rein mütterliches Skelet. Die Elimination ist mit einer Erkrankung des Keimes verbunden.

3. In wenigen und in ihrer Erklärung nicht sicheren Fällen ist die Erkrankung nicht von einer Elimination begleitet. Die Bastardplutei haben dann ungefähr gleich große Kerne wie die *Strong*-Plutei. Das Skelet ist entweder unregelmäßig, oder es zeigt in geringem Maße *Arb*-Charaktere oder es ist rein mütterlich. Für diesen letzten Fall hat jedoch eine andre Erklärung mindestens ebenso viel Wahrscheinlichkeit für sich, wonach es sich um parthenogenetische oder um befruchtete, aber ohne Beteiligung des Spermakerns sich entwickelnde Eier handelt, in denen zu Beginn der Furchung ein Monaster gebildet wird.

B. Ech ♀ × Arb ♂.

Von sechs Zuchten hatten nur zwei einigen Erfolg, deren eine hier in ihrem Entwicklungsverlauf mitgeteilt sei:

Bastardkultur		Datum		Kontrollkultur *Ech*
Befruchtung	4 Uhr 50 Min.	27. III. 09	4 Uhr 50 Min.	Befruchtung
Blastulae, zuweilen mit Ansatz zur Gastrulation. Von Zellhaufen mehr oder minder gefüllt	10 Uhr 15 Min.	29. III.	6 Uhr abends	Plutei
do.		30. III.		
1 Pluteus, sonst nur Blastulae oder Gastrulae		1. IV.		
Abgestorben		3. IV.		

Wie bei der entsprechenden *Strong*-Kombination erkranken auch hier die Keime im Blastulastadium. Der Pluteus, der einzige sämtlicher Zuchten, besaß nur zwei einfache Scheitelstäbe. Leider ging er während der Untersuchung verloren, so daß ich keine Angaben über die Größe seiner Kerne machen kann.

Angesichts dieses kläglichen Resultats sind uns die Mitteilungen andrer Autoren um so wichtiger. Es hat wiederum VERNON, außerdem auch DRIESCH erfolgreich mit diesem Bastard gearbeitet. VERNON (1898) konnte in einer Kultur nicht weniger als 45% aller Eier befruchten und bis zum Pluteus züchten. "These plutei appeared to be of the pure *Echinus* type" (S. 500). Nach DRIESCH (1898) zeigen die Larven im Skelet »im allgemeinen die Charaktere des *Echinus*, aber es sind doch nicht zu übersehende Abweichungen vorhanden. Freilich findet sich in den Armen wie bei *Echinus* nur ein Stab. Die Apicalstäbe sind es, die Differenzen zeigen: Bei *Echinus* verlaufen sie schnurgerade, gehen plötzlich in die Keulen über und sind mit wenigen Stacheln besetzt. Bei den Larven der Kultur $\frac{A}{E\,\text{♀}}$ sind sie gebogen, verbreitern sich allmählich, und tragen etwas mehr Stacheln« (l. c. S. 89). DRIESCH legt »namentlich auf die Biegung« Gewicht und sieht darin die Annäherung an *Arbacia*. Man muß aber zugeben, daß auch diese gebogenen Scheitelstäbe in ihrem Charakter *Ech* näher stehen als *Arb*. Man vergleiche dafür DRIESCHS Figuren 4, 6 und 7. Ich konnte diese Krümmung nie beobachten.

Das Ergebnis der genannten Autoren steht im Einklang mit dem, was wir bei *Strong* ♀ × *Arb* ♂ gefunden haben. Es werden ausschließlich oder vorherrschend mütterliche Skeletcharaktere ausgebildet.

Cytologische Untersuchungen habe ich nicht ausgeführt. Berücksichtigen wir, daß bei den *Sphaer* ♂-Kombinationen sich die beiden Species *Strong* und *Ech* gleich verhalten, berücksichtigen wir ferner die Gleichartigkeit von *Strong* und *Ech* in den beiden Bastardkombinationen untereinander, so ist wahrscheinlich, daß *Ech* ♀ × *Arb* ♂ und *Strong* ♀ × *Arb* ♂ ebenso analog sind. Die Beobachtungen an der lebenden Kultur stimmen damit überein.

C. Sphaer ♀ × Arb ♂.

Von zehn Kulturen hatten sechs einigen Erfolg. Die Furchung geht in typischer Weise vor sich.

Kontrollkultur *Sphaer*				Bastardkultur
Befruchtung . . .	5 Uhr 5 Min.	16. IV. 09	5 Uhr 5 Min.	Befruchtung
Mesenchymbildung beginnt	10 Uhr 30 Min. abends	17. IV.	10 Uhr 30 Min. abends	Schwimmende, durchsichtige Blastulae
Plutei		19. IV.		Die Blastulae sind alle erkrankt

Die Bastardblastulae sind zuerst gesund; dann erkranken sie.

Die ersten Teilungen. Die Untersuchung des Chromosomenbestandes zweier Spindeln aus Morulastadien lieferte 36 und 35 Chromosomen. Eliminationsklumpen wurden nicht gesehen. Es ist also ziemlich sicher, daß eine Elimination in den ersten Entwicklungsstadien nicht eintritt.

In einer Kultur wurden zahlreiche Eier mit parthenogenetisch entstandenen Monastern mit 20 Chromosomen beobachtet, die sich jedoch nicht regelmäßig weiter furchten. Höchst selten kam es zu einem halbwegs regelmäßigen Zweizellen-Stadium.

Die Plutei. Über das Skelet der Plutei kann ich keine sicheren Angaben machen. Jedenfalls überwiegt immer ganz wesentlich der *Sphaer*-Charakter. Ich fand eine Larve mit nach *Sphaer*-Art gegitterten schönen Analstäben mit zahlreichen Querbalken, ferner mit verzweigten Scheitelstäben und, was betont sei, langen Scheitelästen an den Oralstäben. Ein Scheitelrahmen war allerdings nicht ausgebildet. Immerhin trug die Larve fast ausschließlich *Sphaer*-Charakter. Ein zweiter Pluteus war nicht so typisch ausgebildet: die Gitterstäbe waren unregelmäßiger; die Scheitelstäbe etwas verzweigt.

Da sich die beiden elterlichen Species ziemlich ähnlich sind, ließe sich nur an einer größeren Reihe von Larven die Vererbungsrichtung genauer bestimmen. Eine solche Serie stand mir nicht zur Verfügung. Dagegen hat Vernon (1898) eine Anzahl Plutei gezüchtet. "These plutei were of the *Sphaerechinus* type, but about a third of them bore obvious traces of their hybrid origin. Thus, the anal arm skeletons were very similar to those of *Arbacia* plutei. The three rods were somewhat closer together and were connected by only one or two crossbars at the body end, instead of numerous ones troughout the whole length" (S. 500).

Die Kerngröße der Plutei steht hinter derjenigen der reinen *Sphaer*-Kontrolle nur wenig zurück. Jedenfalls ist der Unterschied in den vier untersuchten Fällen nie so frappant gewesen wie bei *Strong* ♀ × *Arbacia* ♂.

Nach allem kann das Urteil über die Beobachtungen an dieser Bastardkombination nur eine Vermutung sein. Die Befunde Vernons stimmen mit den meinen zwar nicht im einzelnen, aber doch im ganzen überein: Ein geringer väterlicher Einfluß scheint vorzukommen. Die Beobachtungen über die Kerngröße entsprechen den bei *Strong* ♀ × *Arb* ♂ ausnahmsweise gemachten. So dürfte vielleicht hier angenommen werden, daß das *Arb*-Chromatin in den Larvenkernen verbleibt, jedoch nur einen geringen Einfluß auf die Skeletbildung auszuüben vermag.

VI. Die Bastardkombinationen mit Arbacia ♀.

Diese Kombinationen bieten infolge der Undurchsichtigkeit und der Pigmentierung des Eiplasmas von *Arbacia* der Untersuchung größere Schwierigkeiten. Auch bei Anwendung von essigsaurem Karmin, wodurch die Pigmentfärbung verschwindet, wird die Undurchsichtigkeit nicht ganz behoben. Besonders störend in den Essigkarminpräparaten sind die Dotterkörnchen, die bei Chromosomenzählungen von Spindeln in Polansicht leicht mit Chromosomen verwechselt werden können.

Die Zuchtresultate nehmen sich recht dürftig aus. Plutei wurden selten ausgebildet, und wenn es doch vorkam, war das Skelet immer mehr oder weniger abnorm. So können die Ergebnisse bei dieser Bastardgruppe zur Lösung oder zur Klärung der durch die Beobachtungen an den andern Bastarden berührten Problemen nichts beitragen. Sie werden hier kurz dargestellt in Hinsicht darauf, daß eine weitere Untersuchung zu wünschen wäre. Die Kombinationen sind:

Arb ♀ × *Strong* ♂,
Arb ♀ × *Ech* ♂,
Arb ♀ × *Sphaer* ♂.

Die *Sphaer* ♂-Kombination wurde schon im Anschluß an die übrigen *Sphaer* ♂-Bastarde behandelt; es bleiben noch die beiden ersten, welche zusammen besprochen werden können, infolge der Gleichartigkeit von *Strong* und *Ech*.

Arb ♀ × Strong ♂ und Arb ♀ × Ech ♂.

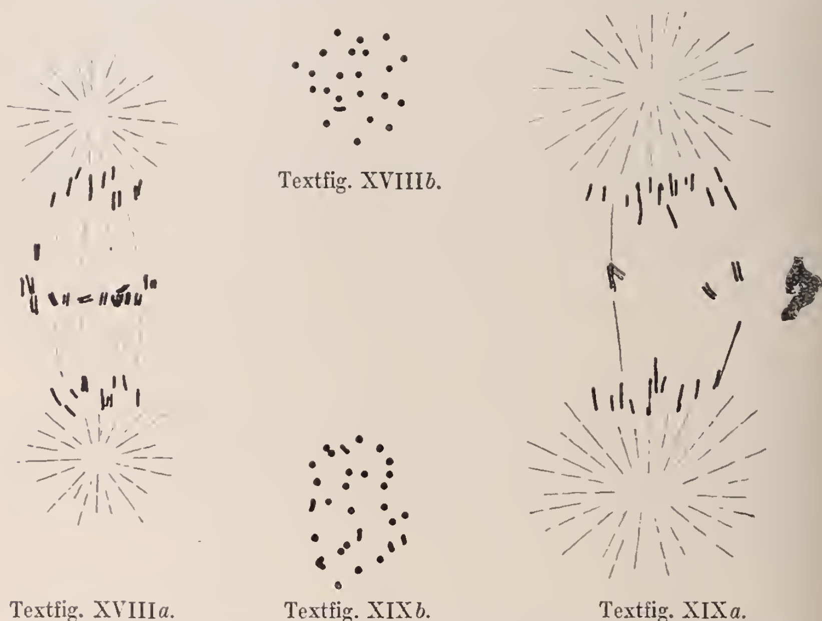
Von 17 Kreuzungsversuchen der Kombination *Arb* ♀ × *Strong* ♂ hatten sieben ein annehmbares Resultat [1]). Die Kombination *Arb* ♀ × *Ech* ♂ bot größere Schwierigkeiten; von fünf Kulturen waren vier gänzlich erfolglos, nur in einer einzigen wurden einzelne Eier befruchtet.

Der Entwicklungsverlauf. Bei beiden Bastardkombinationen geht die Entwicklung bis zur Blastula regelmäßig. Ob jedoch die Blastulae nach dem Ausschlüpfen noch ganz gesund aussehen, wie bei *Strong* ♀ × *Arb* ♂ oder ob sie schon vorher erkranken, wurde versäumt festzustellen. Regelmäßig war in späteren Blastulastadien eine Erkrankung vorhanden; das Blastocoel war mit Zellhaufen erfüllt. Wenn, was nur in

[1]) Der günstigste Erfolg trat in der Lösung 2,0 ccm $\frac{n}{10}$ NaOH × 100 ccm Seewasser ein.

einer Kultur von *Arb* ♀ × *Strong* ♂ stattfand, Plutei gebildet wurden, so geschah es mit bedeutender Verspätung gegenüber der Kontrolle (vgl. auch Driesch, 1898. S. 75).

Das Skelet des Pluteus war in allen Fällen stark abnorm, näherte sich aber in seinem Charakter entschieden dem *Arb*-Skelet. So wurde einmal der für *Arb* charakteristische Verbindungsbogen der Scheitelstäbe beobachtet; auch mehr oder weniger gut ausgebildete Gitterstäbe waren häufig. Einen gut ausgebildeten, ganz normalen Pluteus aber, dessen



Arb ♀ × *Ech* ♂: Textfig. XVIII *a* und *b*. Spindel aus einem Vierzellen-Stadium. Vergr. 1 : 1870.
Textfig. XIX *a* und *b*. Spindel aus einem Morula-Stadium. Vergr. 1 : 1870.
In den Seitenansichten sind nicht alle Chromosomen eingezeichnet.

Skelet man als rein mütterlich hätte bezeichnen können, fand ich niemals, ebensowenig einen, bei dem man sichere für *Strong* specifische Charakteristika hätte feststellen können. — In der Leibeshöhle der Larven waren immer große dunkle Ballen und Klumpen von anormalen Zellen zu sehen.

Aus der Literatur sind die Angaben von Driesch (1898) und Vernon (1898) anzuführen. Driesch züchtete Plutei von *Arb* ♀ × *Ech* ♂. »Das Armskelet ist mehrstäbig, also weiblich, aber das Hauptskelet zeigt Anklänge an die Charaktere des *Echinus*: apical findet mehr ein Zusammenlegen der beiden Stäbe statt, als eine Verbindung durch einen Bogen.

auch sind der Stacheln viel weniger, kurz es ist gleichsam ein Kompromiß geschlossen zwischen dem Skelet der *Arbacia* und dem des *Echinus*« (S. 88).

VERNON spricht sich nicht eingehend über den Skeletcharakter aus. Er gibt für *Arb* ♀ × *Ech* ♂ an: "These larvae also proved to be of the pure *Arbacia* type, the only difference noticed being a slight increase in the irregularity of the calcareous skeleton at the base of the body" (S. 500). Ein ähnliches Urteil gibt er über *Arb* ♀ × *Strong* ♂ ab: "These proved to be of the pure *Arbacia* type" (S. 500). Leider fehlen speziellere Angaben.

Nach den Beobachtungen VERNONS ist also der Charakter des Skelets dieser Bastarde, von Abnormitäten abgesehen, rein mütterlich. Nach DRIESCH kommen Anklänge an den Vater vor.

Die Kerngröße der Bastardlarven. Die Vergleichung der Größe von Bastardkernen und Kernen der *Arb*-Kontrollkultur leidet naturgemäß daran, daß die Bastardlarven niemals zu typischen Plutei herangewachsen waren; wir können deshalb nicht genau Plutei mit Plutei vergleichen und wissen nicht, welchem Larvenstadium der Kontrollkultur die Bastardkeime zu vergleichen sind, welche auf dem Gastrulastadium stehen blieben. Ferner finden wir überall zahlreiche kranke, stark vergrößerte Kerne und es ist wohl auch fraglich, ob die normal aussehenden Kerne in ihrer Größe ganz typisch sind. Das Resultat kann nach alledem nur approximativ sein. Ungefähr sind die Kerne der Bastardlarven gleichgroß wie diejenigen der Kontrollplutei.

Untersuchung der ersten Furchungsteilungen. In Textfig. XVIII *a* und *b* ist eine der Spindeln eines Vierzellen-Stadiums von *Arb* ♀ × *Ech* ♂ abgebildet. In Textfig. XIX *a* und *b* ein gleiches aus einer jungen Morula. Die Zeichnungen sind nach Essigkarminpräparaten angefertigt. *a* gibt jeweilen die Ansicht von der Seite, *b* die Polansicht einer Tochterplatte. In Fig. 38 (Taf. XXIX) ist eine Tochterplatte einer Morulaspindel abgebildet, aus einer mit HEIDENHAINS Eisenhämatoxylin gefärbten Schnittserie von Bastard *Arb* ♀ × *Strong* ♂ entnommen.

Aus den Seitenansichten sehen wir, daß eine Elimination von Chromosomen vorkommt; zwischen den Chromosomentochterplatten sind die typischen Doppelchromosomen (Textfig. XVIII *a* und XIX *a*) sowie auch Chromatinklumpen vorhanden.

Bei den Polansichten stellen sich verschiedene Chromosomenzahlen heraus.

Textfig. XVIII: 22 Elemente
Textfig. XIX: 28 »
Fig. 38: 33 und 31 Elemente.

Zu demselben Resultat führt uns eine größere Reihe von Zählungen, fast alle an Essigkarminpräparaten ausgeführt, an Spindeln in Metaphase, oder, bei Morulis, an Äquatorialplatten. Die Ergebnisse sind kulturenweise angeordnet. Beobachtungen über eliminierte Chromosomen sind beigefügt, soweit Notizen darüber vorhanden waren.

Arb ♀ × *Strong* ♂:

Kultur A. 4-Zellenstadien:

26 26[1]
27
27

32-Zellenstadien[2]:

33 34
31
28
28
26
28 26 25

Morula:

36
30
33 31

Kultur B. In einem 4-Zellenstadium in Metaphase wurden fünf Platten aus drei Spindeln gezählt:

35, 34, 33, 33, 32.

In allen Spindeln lagen zwischen den Tochterplatten Chromatinkörper: eliminierte Chromosomen.

8-Zellenstadium: 26
29

16-Zellenstadium: 33; eliminierte Chromosomen nachweisbar.

32-Zellenstadium: 30, 30; mit eliminiertem Chromatin zwischen den Tochterplatten.
32, 34; zwischen den Platten einige eliminierte Chromosomen.

Kultur C. 2-Zellenstadium: 36
38

16-Zellenstadium: 34

In keinem dieser drei Fälle waren eliminierte Chromosomen nachweisbar.

---

[1]) Nebeneinanderstehende Zahlen beziehen sich auf den gleichen Keim.

[2]) Die Zellenzahl wurde nur geschätzt.

Arb ♀ × *Ech* ♂. 4-Zellenstadium: 21
21

In beiden Keimen typische Klumpen eliminierten Chromatins.

Morula: 26 27
28
28
24
27

Die Morulae enthalten größere Chromatinansammlungen, außerdem in einzelnen Spindeln noch eliminiertes, im Äquator liegendes Chromatin.

Wir kommen nach dieser Liste zu folgendem Bild des Ablaufs der ersten Mitosen: In der Regel sind nach der Elimination in den Spindeln noch 28—30 Chromosomen vorhanden und zwar scheint diese Zahl für beide Kombinationen zu gelten. Da die Gesamtzahl der Elemente, einschließlich der eliminierten, auf 38 zu berechnen ist, werden in der Regel 8—10 Chromosomen eliminiert.

Die Elimination unterliegt beträchtlichen Schwankungen. Häufig sind Keime, die auch in späteren Furchungsstadien über 30, ja bis zu 38 normale Chromosomen besitzen. Dann fehlen naturgemäß auch jene Eliminationsklumpen (Kultur C). Zuweilen aber geht die Elimination über das gewöhnliche Maß hinaus, wie Textfig. XVIII*a* und *b* zeigt. Hier sind nur 22 Chromosomen in jeder Platte zu zählen und wenn diese Zahl auch nicht auf eine Einheit genau sein mag, so sind doch sicher wesentlich weniger als 28 typische Elemente vorhanden. Die Zahl der eliminierten Chromosomen beträgt hier etwa 15.

Über die Herkunft der eliminierten Chromosomen läßt sich aus den hier gemachten Angaben kein Schluß ziehen; ebensowenig aus den gegebenen Bildern, welche nach Essigsäure-Karminpräparaten und hauptsächlich nur auf genaue zahlenmäßige Feststellung hin gezeichnet wurden, bei nicht sehr hoher Vergrößerung, so daß man die Größenunterschiede der Chromosomen zur Untersuchung nicht heranziehen kann. Allerdings erscheint es nach all den gemachten Beobachtungen an andern Kombinationen durchaus wahrscheinlich, daß väterliche Elemente ausgeschaltet werden.

VII. Die Echiniden ♀-Crinoiden ♂-Bastarde.

Nach den Ergebnissen, die an den Bastarden der vier Echinidenspecies unter sich gewonnen worden waren, mußte notwendigerweise meine Aufmerksamkeit auf Bastarde zwischen weniger verwandten Species gelenkt werden. Da schon Godlewski (1906) in weitem Umfange

Kreuzungen zwischen Echiniden und Crinoiden durchgeführt hatte, stellte ich an eben diesem Material einige Versuche an. Dabei ergab sich fast durchweg eine Bestätigung der Godlewskischen Forschungen. — Ich kreuzte *Strong* ♀ und *Ech* ♀ mit *Antedon* ♂. Die reziproke Kombination konnte ich nicht versuchen, da mir reife *Antedon*-Eier nicht zur Verfügung standen.

Die Hauptfragen, auf welche sich die Untersuchung richtete, waren: Werden zu Beginn der Furchung oder des Blastulastadiums Chromosomen eliminiert? Ferner: Was trägt das Skelet für Charaktere? Nach Godlewski (1906) werden keine Chromosomen, weder zu Anfang noch im weiteren Verlauf der Entwicklung eliminiert. Das Skelet ist nach seiner Angabe rein mütterlich.

Die ersten Furchungen. Gleich hier bestätigten sich die Beobachtungen des genannten Autors. Die Chromosomen verhalten sich bei den ersten Teilungen alle normal. Sie spalten sich in typischer Weise und bilden die Tochterplatten. Eine Elimination setzt nicht ein. In Fig. 39 *a* und *b* (Taf. XXIX) sind die Chromosomen einer ersten Furchungsspindel von *Strong* ♀ × *Ant* ♂ im Stadium der Metaphase dargestellt. Das Bild ergänzt die von Godlewski gegebenen Zeichnungen insofern, als die Chromosomenformen genau berücksichtigt sind. Wir sehen die längeren Stäbchen und ein langes hakenförmiges Element (Fig. 39 *b*), wie es bei *Strong* gefunden wird. Die kurzen und die U-förmigen Elemente kommen bei *Strong* nicht vor und können nur *Antedon* zugeschrieben werden. Irgendwelche in der Spaltung zurückgebliebene Elemente oder eliminierte Chromatinklumpen wurden nie beobachtet; es sind alle Chromosomen in die Tochterplatten aufgenommen. Godlewski fand, »daß von der Entscheidung der Herkunft einzelner Chromosomen vom väterlichen oder mütterlichen Vorkern keine Rede sein kann« (S. 605, l. c.). Nach dem hier gegebenen und oft bestätigten Befund sind jedoch einzelne *Strong*-Elemente durchaus sicher als solche zu erkennen. Leider konnte ich, infolge von Mangel an befruchtungsfähigen *Antedon*-Eiern keine reinen *Antedon*-Kulturen züchten. Aber schon die Tatsache, daß in der Spindel eine Anzahl von Chromosomen vorkommen, welche nach ihrer in allen Spindeln wiederkehrenden Form und Größe deutlich nicht auf *Strong* beziehbar sind, spricht gegen Godlewskis Annahme, welche besagt, daß »die *Antedon*-Chromosomen unter dem Einfluß des sie umgebenden Protoplasmas des *Echinus*-Eies[1]) sich derart verändern, daß sie

[1]) Ob *Ech* oder *Strong*, läuft in dieser Sache auf dasselbe hinaus. Ich habe nur *Strong-Antedon*-Bastarde auf den Chromosomenbestand näher studiert.

die morphologische Gestalt und Beschaffenheit der Chromosomen von *Echinus* annehmen« (GODLEWSKI, l. c. S. 606). Es ist im Gegenteil wahrscheinlich, daß, wie bei den andern Bastarden auch hier die Chromosomen in fremdem Plasma ihre eigene Form bewahren. Die Chromosomenzahl der in Fig. 39 abgebildeten Platten beträgt 29 und 28.

Im folgenden sind eine Reihe weiterer Zählungen zusammengestellt:

Strong ♀ × *Antedon* ♂.

I. Furchungsspindel:	30	30
	30	
	30	28
	30	28

Ech ♀ × *Antedon* ♂.

4-Zellenstadium:	30	29
	30	
	28	
	30	
Etwa 64-Zellenstadium:	31	
	30	
Durchschnittsresultat:	29,7	

Die Chromosomenzahl muß somit in den Bastarden auf 29 oder 30 angenommen werden, wovon, da der *Strong*- oder *Ech*-Eikern 18 geliefert hat, 12 oder 11 auf *Antedon* kommen. Die Chromosomenzahl von *Antedon* selbst festzustellen, war mir leider unmöglich. Sie ist in Anbetracht der Regelmäßigkeit der Bastardmitosen und des Fehlens von Eliminationsklumpen mit großer Wahrscheinlichkeit für den *Antedon*-Spermakern auf 12, also für die Furchungsspindeln auf 24 anzusetzen. GODLEWSKI hat bei seinen Bastarden »über 20« Chromosomen gezählt. Eine seiner Figuren (l. c. Fig. 9) läßt etwa 22 Elemente erkennen. Das *Echinus*-Material seiner Versuche gehörte jedoch zu der Varietät mit neun Chromosomen in jedem Vorkern. Also ist auch nach seiner Rechnung *Antedon* mit etwa 12 oder 13 Chromosomen beteiligt.

Die weitere Entwicklung des Bastards erhellt aus den beigefügten Notizen das Protokolls (S. 586).

Das Ergebnis, wie es sich in diesen Angaben ausprägt, ist noch entschiedener wie dasjenige, zu dem GODLEWSKI gelangte: eine Verzögerung, ja eine Einstellung der Entwicklung im Blastulastadium. Nach GODLEWSKI hält die Entwicklung des Bastards bis zur Blastula

Ech ♀ × *Antedon* ♂.

Bastardzucht	Datum			Kontrollzucht *Ech*
Befruchtung . . .	1 Uhr 40 Min.	26. III. 09	1 Uhr 40 Min.	Befruchtung
Mesenchymzellen beginnen einzuwandern	9 Uhr	27. III.	9 Uhr	Mesenchymzellen haben begonnen einzuwandern
Gastrulae, kein Mesenchymzellenring	6 Uhr abends	27. III.	6 Uhr abends	Prisma
Gastrulae	9 Uhr	28. III.	9 Uhr	Pluteus
Gastrulae, einzelne Prismen	7 Uhr abends	29. III.		
1 schlecht ausgebildeter Pluteus .	8 Uhr	30. III.		
Einige junge Plutei	11 Uhr	31. III.		

Strong ♀ × *Antedon* ♂.

Strong ♀ × *Antedon* ♂ Bastardkultur				Kontrollkultur *Strong*
Befruchtung . . .	4 Uhr 15 Min.	27. III. 09	4 Uhr 15 Min.	Befruchtung
Blastulae, trüb, mit Zellenhaufen im Innern	10 Uhr	29. III.	10 Uhr	Gastrulae, Jungplutei
Blastulae		30. III.		
Gastrulae, zuweilen Prismen	11 Uhr	31. III.		
do.	10 Uhr	1. IV.		
do.		3. IV.		
Plutei entwickelten sich nicht				

mit der Kontrolle gleichen Schritt, dann weicht sie ab. »Bei den heterogenen Bastarden ist gewöhnlich eine kleinere oder größere Verspätung in der Entstehung der Mesenchymzellen wahrnehmbar. Oft geht diesem Prozeß ein längerer Stillstand in der Entwicklung voran. Eine noch längere, fast regelmäßig vorkommende Entwicklungsunterbrechung tritt bei den Bastarden $\frac{\textit{Antedon} ♀}{\textit{Sphaerechinus} ♂}$ vor der Gastrulation ein.« Die von reiner Kultur herstammenden Embryonen haben »schon eine prismatische Gestalt angenommen« — »während die Bastarde teilweise noch

auf dem Blastulastadium verharren« (S. 611, loc. cit.). Bei der Kombination *Ech* ♀ × *Antedon* ♂ kann »der Stillstand in der Entwicklung auf verschiedenen Stadien vorkommen«. »Im Blastulastadium, während der Gastrulation, oder vor Beginn der Skeletbildung« (S. 612). Nach meinen eigenen Beobachtungen an acht Kulturen trat im Blastulastadium fast immer ein Stillstand der Entwicklung ein. Die Mesenchymzellen begannen, einzuwandern. Dabei aber blieb es meistens; zuweilen gastrulierte der Keim noch. Trübe Keime, mit Zellenhaufen erfüllt, waren sehr oft zu beobachten. Der Stillstand dauerte, wenn der Keim sich überhaupt noch weiter entwickelte, etwa 2 Tage. Das Pluteusstadium wurde gegenüber der Kontrollzucht mit wesentlicher Verspätung erreicht.

Der Pluteus. Im ganzen lieferten die acht Kulturen nur etwa 15 Plutei, von denen zehn nach Protokoll und Zeichnungen folgende Skeletcharaktere aufwiesen:

5 Plutei mit keulenförmigen Scheitelstäben und einem einfachen Stab in jedem Analarm.
1 Pluteus mit unverdickten Scheitelstäben. Im Analarm der einen Seite zwei kurze, zackenartige Stäbe. Die andre Seite ohne Analstab.
1 Pluteus: zwei Scheitelstäbe, deren einer etwas verzweigt. Jederseits ein Analstab.
1 Pluteus: zwei schwach keulenförmige Scheitelstäbe; auf der einen Seite ein Analstab, auf der andern Seite zwei.
1 Pluteus mit einem typischen Scheitelstab. Skelet sonst unregelmäßig.
1 Gastrula mit zwei keulenförmigen Scheitelstäben und jederseits einen kurzen Analstab.

Nach Godlewski »entwickeln sich die Bastarde immer streng nach dem mütterlichen Typus« (S. 636). Unser Resultat stimmt damit gut zusammen. Die Plutei besitzen ein Echinidenskelet. Charaktere des *Antedon*-Skelets ließen sich nicht feststellen. Man vergleiche dafür die Angaben von Seeliger (1893). Die Verdoppelung der Analstäbe, welche gelegentlich auftritt, ist nicht als ein solcher anzusehen, sondern lediglich als Aberration. So sagt auch Godlewski: »Hier und da trifft man in der Ausbildung der Bastardlarven Abweichungen von dem normalen, mütterlichen Entwicklungstypus. Trotz des sorgfältigsten Durchmusterns der zahlreichen Kreuzungskulturen ist es mir jedoch nie gelungen, ein Objekt zu finden, an welchem diese Abweichungen als ein Umschlag zum väterlichen Typus gedeutet werden konnten« (l. c. S. 621).

Die Kerngröße. Auch über die Kerngröße hat Godlewski Angaben gemacht: der Hybride nimmt hierin eine Mittelstellung ein zwischen den beiden elterlichen Species (vgl. S. 625 u. 626, l. c.). Nach seiner Erfahrung hat *Antedon* größere Kerne als *Echinus*, auf den sich seine Angabe bezieht. Godlewski verglich Gastrulae. Ich verglich *Strong*- oder *Ech*-Plutei mit den Bastardplutei und fand keinen Größenunterschied[1]), woraus sich jedoch nichts andres als das Godlewskische Resultat ergibt, demzufolge eine Elimination von Chromatin nicht stattfindet. Es dürften, wenn das väterliche Chromatin eliminiert würde, die Kerne der Bastardplutei nur etwa halb so groß sein wie diejenigen der *Strong*- oder *Ech*-Kontrollplutei.

Ich komme damit zum gleichen Endresultat wie Godlewski, »daß das Chromatin von *Antedon* an der Bildung der embryonalen Kerne teilnimmt, daß trotzdem aber die *Antedon*-Charaktere auf den Bastarden dieser Generation nicht wahrnehmbar werden« (S. 626, l. c.).

Allgemeiner Teil.

Die mitgeteilten Beobachtungen geben Anlaß zu einigen allgemeinen Erörterungen. Dabei sind folgende Hauptpunkte zu betrachten:

I. Die Ursache der Elimination und der Sistierung in der Entwicklung.
II. Die Bedeutung der Chromosomen und des Plasmas für die Vererbung.
III. Die specifische Natur der Chromosomen. Zur Theorie von der qualitativen Verschiedenheit der Chromosomen.
IV. Über die Beziehung zwischen dem Verhalten des Chromatins und der Verwandtschaft der bastardierten Species.

I. Die Ursache der Elimination und der Sistierung in der Entwicklung.

Eine Vergleichung des Entwicklungsgangs der sämtlichen näher untersuchten Bastardkombinationen zeigt, daß die Elimination in zwei ganz verschiedenen Formen auftritt. Bei den Bastarden, in denen der Spermakern von *Sphaer* stammt, findet sie während der ersten mitotischen Teilungen statt, bei den *Arb* ♂-Bastarden aber erst im Blastula- oder frühen Gastrulastadium.

---

[1]) Möglicherweise spielt dabei der Umstand eine Rolle, daß Godlewski *Echinus*-Eier mit 9, ich aber solche mit 18 Chromosomen im Eivorkern verwendete.

a) Die Elimination bei den Sphaer ♂-Bastarden.

Vor allem ist zu beachten, daß nur Elemente des Spermakerns eliminiert werden. Dies konnte bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ für alle, bei *Arb* ♀ × *Sphaer* ♂ für fast alle Chromosomen, welche der Elimination verfallen, mit Sicherheit nachgewiesen werden und gilt ohne Zweifel auch für *Ech* ♀ × *Sphaer* ♂. Ferner haben wir gesehen, daß die Elimination erst bei der Spaltung der Chromosomen eintritt. Vorher verläuft der Prozeß der Mitose bei allen Elementen ohne Abweichung. Unter diesen Umständen liegt es nahe, für die Elimination die Verschiedenheit in den Furchungszeiten verantwortlich zu machen, da ja bei derjenigen Species, die sich langsamer furcht, auch die Chromosomenspaltung später eintritt und deswegen im Bastard innerhalb der durch die Furchung gegebenen Zeit nicht zustande kommen könnte. Also haben wir uns vor allem mit der Frage zu beschäftigen, wie sich bei den in Rede stehenden Bastardierungen die Furchungszeiten der verwendeten Arten verhalten.

Hierüber sind schon von verschiedenen Autoren Angaben gemacht worden, eingehend von Driesch und Erdmann.

Bei *Strong* findet die Durchschnürung der ersten Furche nach den Angaben von Erdmann (1909, S. 90) 1 Std. 40 Min. nach der Befruchtung statt. Meine eigene Untersuchung lieferte einen ähnlichen Wert: 1 Std. 30—50 Min. Für *Echinus* sind die Zeiten dieselben, nach Driesch (1898, S. 72) 1 Std. 35 Min. Entsprechende Werte fand ich außer bei *Ech* auch bei den Bastarden *Ech* ♀ × *Sphaer* ♂ und *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂. Die Verzögerung im Furchungstempo war sehr gering — 5 Minuten, was mit den Angaben Drieschs (loc. cit.) übereinstimmt.

Die Durchschnürung der ersten Furche tritt bei *Sphaer*, verglichen mit *Strong* und *Ech*, eine schwache halbe Stunde später ein: nach Driesch (l. c. S. 73) 2 Std. nach der Befruchtung, nach eigenen Beobachtungen 2 Std. 5 Min. bis $2^1/_2$ Std. nach der Befruchtung. Das gleiche gilt für die Bastarde *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ und *Sphaer* ♀ × *Ech* ♂, womit für die *Ech*-Kombination auch Driesch übereinstimmt.

Bei meinen Zuchten sind zwar die Verschiedenheiten im Furchungstempo innerhalb der gleichen Species groß gewesen. Sie sind wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die Temperatur nicht planmäßig konstant gehalten wurde. Für unsre Frage ist dies jedoch erst in zweiter Linie von Bedeutung. Hier ist wesentlicher, daß Bastardkultur und die mit dem gleichen Eimaterial angesetzte Kontrollkultur immer annähernd gleiche Furchungszeiten innehielten.

Die Furchungsgeschwindigkeit von *Arb* ist mit derjenigen von *Sphaer* nach eigener Beobachtung, wie auch nach Driesch (1898, S. 72) »nahezu identisch«.

Die nächstliegende Erklärung der Elimination würde sonach folgendermaßen lauten: Im Moment, wenn die Spaltung der *Strong*-Chromosomen durchgeführt wird, wobei die Sphären auseinander weichen und die Tochtersegmente auseinander ziehen, sind die *Sphaer*-Chromosomen zur Teilung noch nicht bereit. Später, wenn die Tochtersegmente bei den *Sphaer*-Elementen angelegt sind und deren Lösung voneinander durch den Mechanismus der Mitose stattfinden sollte, sind die Strahlungen auseinander gewichen und die mechanische Bedingung für das Auseinanderziehen der Segmente nicht mehr gegeben.

Diese Erklärung scheint auf den ersten Blick sehr einleuchtend und zwar um so mehr, als Herbst (1909) Fälle beschrieben hat, für die sie zutrifft und die den meinigen sehr ähnlich sehen. Er gab *Sphaer*-Eiern einen Anstoß zur Parthenogenese und befruchtete sie dann mit *Strong*-Samen. Die Folge ist, daß die Spermachromosomen in ihrer Entwicklung gegenüber den *Sphaer*-Chromosomen verspätet sind, sich daher nicht spalten, sondern »in unregelmäßiger Weise zerzogen und so auf die beiden Tochterzellen verteilt werden . . . Oder es kommt zur Bildung von chromosomenähnlichen Fäden, die aber auch nicht in Reih und Glied, sondern unregelmäßig nach den beiden Polen auseinander weichen, ohne daß vorher Längsspaltung, wenigstens nicht bei allen, eingetreten ist« (l. c. S. 294). Wie man sieht, stimmt diese Beschreibung und ebenso Herbsts Bilder (l. c. Fig. 13—17 u. a.) mit meinen Beobachtungen gut zusammen. Trotzdem, glaube ich, ist diese Erklärung auf meine Fälle nicht anwendbar; es stehen ihr mehrere schwere Bedenken entgegen.

Einen ersten gewichtigen Einwurf liefert die Bastardkombination *Arb* ♀ × *Sphaer* ♂. Ich habe schon hervorgehoben, daß die Furchungszeiten dieser beiden Species nahezu identisch sind. Dennoch werden, wie wir gesehen haben, fast alle Chromosomen des *Sphaer*-Spermakerns eliminiert und zwar in ganz ähnlicher Weise, wie bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂. Unser Erklärungsversuch versagt hier vollständig. Außerdem lassen sich auch die Kombinationen *Arb* ♀ × *Strong* ♂ und *Arb* ♀ × *Ech* ♂ anführen, bei denen eine wenn auch geringere Elimination während der ersten Teilungen eintritt, obgleich die Furchungszeiten für die väterliche Species sogar kürzer sind wie für die mütterliche.

Zweitens ist einzuwenden, daß das Tempo der Mitose bei *Strong* und *Sphaer*, wie aus vielen Beobachtungen hervorgeht, etwas variiert. Angesichts dessen ist eine Elimination, die sich so regelmäßig auf die gleiche,

nahezu konstante Zahl von 16 Chromosomen erstreckt, kaum verständlich. — Hier sind auch die besonderen Fälle mit geändertem Furchungstempo anzuführen. Es ist bekannt, daß sich die Spindeln in Eifragmenten gegenüber den normalen Furchungsspindeln langsamer entwickeln. So gehört die Spermakernspindel von Fig. 10 (Taf. XXVI) einem 2 Std. 10 Min., diejenige von Fig. 11 einem 2 Std. 20 Min. nach der Befruchtung abgetöteten Eifragment an. Dennoch vermochten die *Sphaer*-Chromosomen nicht sich zu spalten. Eine ähnliche Verspätung zeigen auch häufig die Tetraster. Fig. 9 (Taf. XXVI) gehört zu einem 2 Std. 20 Min. alten Keim. Hier, sollte man denken, wäre für die *Sphaer*-Elemente genügend Zeit zur Entwicklung vorhanden gewesen und trotzdem hat die Elimination den gleichen Umfang wie in den Keinem mit typischer Furchungszeit. Ganz einwandfrei ist allerdings diese Argumentation nicht. Denn es ist nicht bewiesen, daß der mitotische Vorgang sofort nach der Befruchtung begonnen hat. Ferner wäre möglich, daß entsprechend der Verzögerung in der Sphärenentwicklung auch die Entwicklung der Chromosomen langsamer abgelaufen wäre und damit die Bildung der Tochtersegmente entsprechend später stattgefunden hätte.

Drittens muß es befremdlich erscheinen, daß während der Metaphase der nicht eliminierten fast nie eine verspätete Teilung der eliminierten Chromosomen stattfindet. Wie wir gesehen haben, üben die Sphären auch während der Metaphase noch einen Zug auf die eliminierten Doppelchromosomen aus, die dementsprechend mitunter in die Tochterplatten der normalen Elemente hineingezogen werden. Wenn in solchen Fällen nachträglich, während der Metaphase, die Spaltung der Doppelchromosomen durchgeführt würde, so müßte man Bilder erwarten, wie sie bei einseitiger Chromosomenbindung, z. B. bei Monastern zu sehen sind: entweder die beiden Segmente in paralleler Lagerung lose nebeneinander liegend, wie es von M. Boveri (1903, Fig. 10, 19, 20) abgebildet wurde oder Spaltungsfiguren von $<$-ähnlicher Form, wie ich sie bei Monastern (1908, Fig. 22) gefunden habe. Nichts dergleichen ist zu sehen. Wir können im Gegenteil beobachten, daß die Segmente der Doppelchromosomen zwar sehr oft deutlich erkennbar sind, jedoch während der ganzen Mitose fest miteinander verbunden bleiben.

Viertens endlich ist folgendes einzuwenden: Wenn lediglich der Zeitunterschied im Eintreten der Spaltung die Elimination herbeiführt, so bleibt unverständlich, warum in den Kombinationen *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ und *Ech* ♀ × *Sphaer* ♂ nicht alle *Sphaer*-Chromosomen eliminiert werden; vier derselben teilen sich in der typischen Weise. Es müßte, wenn dieser Tatsache Rechnung getragen werden soll, in den

reinen *Sphaer*-Spindeln die Spaltung dieser vier Chromosomen ungefähr eine halbe Stunde früher beginnen als bei den übrigen Elementen, oder wenigstens die Anlage der Tochtersegmente beträchtlich früher wahrzunehmen sein. Die Beobachtung liefert dafür keinen Anhaltspunkt.

Nehmen wir alles zusammen, so geht aus den betrachteten Einwänden hervor, daß die Ursache für die Elimination nicht in der Verschiedenheit des Furchungstempos begründet sein kann.

Sehen wir uns nach einer andern Erklärung um, so müssen wir kurz die Wirksamkeit der Strahlungen erörtern. Es wäre denkbar, daß die von den Centrosomen ausgehenden Kräfte auf eine Anzahl von Elementen nicht wirken könnten, so daß es aus diesem Grunde nicht zu einer Trennung der Tochterchromosomen käme. Wie schon erwähnt wurde, bestätigen die Beobachtungen über die Sphärenwirkung diese Annahme durchaus nicht. Die Sphären üben auch auf die eliminierten Chromosomen ihre Wirkung aus. Die Chromosomen werden gezerrt, in Zipfel ausgezogen und zuweilen auch in die Tochterplatten der normalen Elemente verschleppt. Die Radien treten in gleicher Weise an eliminierte wie an normale Elemente heran. Besonders deutlich sind die Fälle, in denen die eliminierten Chromosomen außerhalb der Spindel liegen. Es zieht dann ein Sector gut ausgebildeter Radien nach ihnen hin (Fig. 5, Taf. XXVI und Fig. 36, Taf. XXIX).

Einen dritten, und wie ich glaube, aussichtsreichen Weg zur Erklärung bietet dagegen folgende Überlegung. Wie ich zu Anfang der Diskussion betont habe, ist es ein Grundzug der Elimination der *Sphaer* ♂-Bastarde, daß nur Chromosomen des Spermakerns ausgeschaltet werden. Bei der Bastardierung wird der Spermakern in ein ihm fremdes Plasma verpflanzt. Nun bestehen zwischen Kern und Plasma gewisse Relationen. Wie eng diese sind, geht schon daraus hervor, daß das Chromatin, dessen Menge sich während der Furchung um ein vielfaches vermehrt, nur aus dem Plasma seinen Substanzbedarf beziehen kann[1]). Die Chromosomen sind in ihrem Entwicklungscyclus vom Plasma, in dem sie sich befinden, abhängig. Es liegt nahe, hier die Ursache für die Elimination zu suchen. Im normalbefruchteten Ei begegnen die Beziehungen zwischen Spermakern und Plasma keinen Schwierigkeiten. Die beiden Komponenten sind auf einander abgepaßt, und zwar, wie wir wohl annehmen dürfen, für jede Species in etwas verschiedener Weise. So läßt es sich verstehen, daß die Beziehungen, welche für die normale Entwicklung der Chromosomen nötig sind, zwischen den *Sphaer*-Chromosomen und dem *Strong-*

---

[1]) Vgl. Loeb, 1906.

Plasma nicht hergestellt werden können. Warum sich diese Störung freilich gerade in der Unfähigkeit zur Spaltung äußert, bleibt unerklärt.

Aus den Beobachtungen ergibt sich nach der vorgetragenen Auffassung weiterhin, daß die genannten Beziehungen zwischen Chromatin und Plasma bei *Sphaer* allem Anschein nach spezialisierter sind als bei *Strong*, *Ech* oder *Arb*. Die *Sphaer*-Chromosomen sind bei einer Verpflanzung in fremdes Plasma empfindlicher als die Elemente der drei andern Species. Eine Elimination während der ersten Furchungsteilungen tritt in größerem Umfange nämlich nur dann ein, wenn der Spermakern von *Sphaer* stammt, nicht aber in den umgekehrten Kombinationen. Sogar die Chromosomen von *Arb*, der mit den übrigen am wenigsten verwandten Species, werden im *Strong*-, *Ech*- oder *Sphaer*-Plasma in den ersten Mitosen nicht eliminiert.

So gelangt man zu der Ansicht, daß die Chromosomenelimination bei den *Sphaer* ♂-Bastarden im wesentlichen auf den besonderen Eigenschaften der *Sphaer*-Chromosomen beruht und nicht das Plasma, das in jeder dieser Kombinationen ein andres ist, diesen Eliminationsvorgang bestimmt.

Mit dieser Auffassung stimmt weiter überein, was man durch Vergleichung des Chromosomenbestandes der verschiedenen *Sphaer*-Bastarde wahrscheinlich machen kann, daß immer die gleichen Chromosomen zur Elimination gelangen. Die beigefügte Tabelle (S. 593) gibt die Daten,

	1,0—1,75	2,0—2,75	3,0—3,75	4,0—4,75	5,0—5,75	6,0—6,75	7,0—7,75	8,0—8,75	9,0 u. mehr	Total
phaer ♀♂	—	—	7	7	3	1	—	1	1	20
trong ♀♂	—	2	7	5	2	1	—	—	—	18
trong ♀ × *Sphaer* ♂	—	2	10	6	2	1	—	—	—	22
rb ♀♂	8	10	2	—	—	—	—	—	—	20
rb ♀ × *Sphaer* ♂ .	3	12	7	—	—	—	—	—	—	22

an Hand deren wir die Vergleichung näher durchführen können. Wir stützen uns dabei auf die Messungen der Chromosomenlänge. Diese ist, wie ich bei früherer Gelegenheit (1909a) ausgeführt habe, für jedes Chromosoma eine specifische, dabei ziemlich konstant und ermöglicht dadurch, die einzelnen Chromosomen oder wenigstens einzelne Chromosomengruppen der verschiedenen Kombinationen zu identifizieren.

In der Tabelle sind die Durchschnittsresultate aus den Längenmessungen eingetragen, welche an den beiden genau untersuchten Bastardkombinationen auf Grund von Zeichnungen in 2270facher Vergrößerung durchgeführt wurden. Die Einrichtung der Tabelle ist die gleiche wie

bei der im speziellen Teil (S. 548) gegebenen. Bei *Sphaer*, *Strong* und *Arb* sind hier jeweilen die Chromosomenbestände für einen Vorkern berechnet[1]); bei den beiden Bastarden aber wurden alle nicht eliminierten Chromosomen einbezogen. Vergleichen wir *Strong* ♀ ♂ mit *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂, so sehen wir, daß die Reihen von 4,0 mm an aufwärts bis auf eine Einheit übereinstimmen. Bis auf eines sind darnach alle *Sphaer*-Chromosomen, die eine Länge von 4 mm und mehr aufweisen, eliminiert worden. Die nicht eliminierten *Sphaer*-Elemente gehören den Längen 3,0—3,75 mm an. Damit haben wir annähernd das gleiche Resultat, zu dem wir auch bei *Arb* ♀ × *Sphaer* ♂ gekommen sind, wie in einem früheren Kapitel (S. 548) dargelegt wurde. Die dort gewonnenen Daten sind in der Tabelle (S. 593) wiederholt. Es werden auch bei dieser Kombination alle *Sphaer*-Elemente höherer Länge eliminiert und nur zwei der kürzesten aus der Kolonne 3,0 bis 3,75 verhalten sich normal.

b) Die Elimination bei den Arb-♂-Bastarden.

Bei der Besprechung dieser Bastarde muß ich mich auf die Kombination *Strong* ♀ × *Arb* ♂ beschränken, weil ich diese allein genau untersucht habe. Es ist jedoch wahrscheinlich, daß alles, was hier gesagt wird, auch für *Ech* ♀ × *Arb* ♂ gilt.

Bei den ersten Furchungen findet keinerlei Elimination statt (vgl. S. 559 ff.). Die *Arb*-Chromosomen machen den karyokinetischen Vorgang mit wie die *Strong*-Elemente. Die Entwicklung des Keimes verläuft ganz regelmäßig. Erst in den Blastulae oder jungen Gastrulae tritt im typischen Fall eine Abweichung von der normalen Entwicklung ein. Die Kerne werden pathologisch. Die Entwicklung sistiert; der Keim, vordem eine gesunde Blastula, wird allem Anschein nach infolge der Kernerkrankung selbst krank und von degenerierenden Zell- und Kernhaufen erfüllt. Während dieser Periode kommt es im typischen Fall zu einer Ausstoßung von Chromatin aus den Kernen, sehr wahrscheinlich während des Ruhestadiums derselben. Damit steht eine bedeutende Verkleinerung der Larvenkerne in Zusammenhang, worüber das Nähere im speziellen Teil nachzulesen ist (S. 562).

Hier bietet uns eine Annahme, zu der Boveri auf Grund seiner Dispermienversuche (1907) gekommen ist, eine sehr einleuchtende Erklärung. Boveri unterscheidet zwei Entwicklungsperioden des Keimes: eine erste,

[1]) Sie wurden durch Halbierung des Chromosomenbestandes normaler Furchungsspindeln gewonnen.

in der »von den Chromosomen nur gewisse generelle Qualitäten wirksam sind; und eine zweite, in welcher die Chromosomen durch ihre specifischen Eigenschaften zur Geltung kommen und in der der Keim, wenn diese Wirkung ausbleibt oder eine unrichtige ist, zugrunde geht« (1907, S. 249). Der Satz paßt in seiner zweiten Alternative: wenn die Wirkung eine unrichtige ist, auf unsre Verhältnisse. In der ersten Periode war ein Gegensatz zwischen *Arb*-Chromosomen und *Strong*-Plasma nicht vorhanden, da nur die generellen Chromosomenqualitäten wirksam waren; Qualitäten, die den Chromosomen überhaupt oder, was mir wahrscheinlicher vorkommt, wenigstens den Chromosomen verwandter Species, wie es *Arb* und *Strong* immerhin sind, gemeinsam zukommen. Sowie aber in der zweiten Periode die spezifischen Qualitäten in den *Arb*-Chromosomen zur Wirkung gelangen, wird der Gegensatz zwischen ihnen und dem *Strong*-Plasma akut. Die Kerne und allem Anschein nach infolge davon die ganzen Keime werden krank. Die Ausstoßung von Chromatin dürfen wir demnach wohl in der Weise deuten, daß das artfremde *Arb*-Chromatin ausgestoßen wird. Das Mengenverhältnis von eliminiertem und übrigbleibendem Chromatin harmoniert gut mit dieser Auffassung (vgl. S. 567).

Von dem Umfange, in dem die Elimination möglich ist und damit die Sanierung der Kerne, wird es abhängen, ob der Keim sich schließlich noch weiter entwickelt oder nicht. So sehen wir, daß die Mehrzahl der Blastulae und Gastrulae in dieser Periode abstirbt oder wenigstens die Entwicklung nicht fortsetzt. Diejenigen, die sich weiter entwickeln, haben mit nur sehr wenigen Ausnahmen (S. 571 ff.) verkleinerte Kerne.

Von Wichtigkeit ist die Tatsache, daß im Zeitpunkt der Erkrankung unsrer Bastarde und der dispermen Blastulen Boveris Übereinstimmung herrscht. Die dispermen Keime erkranken gewöhnlich im »Stadium der Blastula, vor oder während oder nach der Mesenchymbildung« (Boveri, 1907, S. 251). Zur selben Zeit werden auch unsre Bastarde krank. Der Zeitpunkt variiert nicht stärker als bei den dispermen Blastulis. Sie können erkranken, wenn die Mesenchymzellenbildung eben in vollem Gange ist, oder etwas später, wenn die Gastrulation begonnen hat. Vor der Mesenchymzellenbildung erkrankten die Larven nicht.

c) Vergleichung der beiden Eliminationstypen.

Unsre Auffassung vom Wesen der beiden Eliminationsarten wird, glaube ich, durch eine Vergleichung der Vorgänge bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ und *Strong* ♀ × *Arb* ♂ ins richtige Licht gesetzt. Wenn wir die Krankheitsbilder der beiden Kombinationen neben einander halten, so erkennen wir einen wesentlichen Unterschied. Bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ finden

wir verhältnismäßig wenig kranke Zellkerne, dagegen jene großen Ansammlungen von eliminiertem Chromosomenmaterial, welche die normale Entwicklung stören (vergl. S. 530 ff.). In *Strong* ♀ × *Arb* ♂ aber sind immer eine große Zahl, in vielen Fällen sogar fast alle Kerne krank. Größere Chromatinansammlungen sind selten; häufig sind kleine Chromatinbrocken (vergl. S. 564). Die Erklärung ist leicht zu geben: Nur bei dem *Arb* ♂-Bastard beruht die Erkrankung auf einem Gegensatz zwischen dem Plasma und denjenigen Eigenschaften der Chromosomen, die wirksam sind bei der Entwicklung des Organismus in den weiteren Stadien, wovon für uns das Gastrula- und das Pluteusstadium in Betracht fallen.

Schon der Umstand, daß die *Sphaer*-Chromosomen im Anfang der Furchung eliminiert werden, macht es nach der Boverischen Anschauung wahrscheinlich, daß die Elimination bei den *Sphaer* ♂-Kombinationen nicht auf Gegensätzen zwischen dem Plasma und den specifischen Chromosomenqualitäten beruht, welche erst in der zweiten Entwicklungsperiode wirksam werden. Vielmehr liegt, wie schon gesagt wurde, der Grund dieser Elimination in der Unfähigkeit der Tochterchromosomen, sich von einander zu trennen und dies ist ein Faktor, der mit der späteren Bedeutung der Chromosomen für die Entwicklung nichts zu tun hat. Für die Richtigkeit dieser Annahme sind noch eine Reihe weiterer Gründe anzuführen. Erstens sahen wir, daß die vier *Sphaer*-Chromosomen, welche zu Anfang nicht eliminiert wurden, höchst wahrscheinlich auch später in den Kernen verbleiben. Sie stehen also nicht im Gegensatz zu dem Plasma, in dem sie sich entwickeln, denn sie haben allem Anschein nach nicht zur Erkrankung der Kerne geführt. — Zweitens konnten wir beobachten, daß sich die eliminierten Chromosomen im Plasma noch weiter entwickeln können. Man sieht sie noch in Morulis als Stäbchen, welche sogar mit den Sphären in Beziehung treten können. Man kann auch beobachten, daß sie sich noch beträchtlich weiter vermehren (vgl. S. 530 und Fig. 5 und 6, Taf. XXVI). Drittens sei zugunsten unsrer Annahme auch auf die Entwicklung des Bastards *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ hingewiesen. Dort treten die *Strong*-Spermachromosomen ohne Nachteil für die Entwicklung des Keimes an die Stelle der *Sphaer*-Spermachromosomen selbst und bringen auch ihre specifischen Qualitäten zum Ausdruck, wie der intermediäre Charakter des Skelets zeigt[1].

[1]) Am schlagendsten offenbart sich dies in der Entwicklung der kernlosen *Sphaer*-Eifragmente, welche mit *Strong*-Samen befruchtet wurden. Boveri hat solche in Massenkultur (1889) und gemeinschaftlich mit Mac Farland isoliert gezüchtet (vgl. Boveri 1901) und Plutei mit rein väterlichem Skelet erhalten.

Einen wirklichen Beweis haben wir damit freilich nicht, denn es handelt sich für uns um die entgegengesetzte Kombination, *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂. Wenn jedoch die *Strong*-Chromosomen im *Sphaer*-Plasma ihre specifische Natur zur Geltung bringen können, in gleicher Weise wie die *Sphaer*-Elemente selbst, so liegt es immerhin näher, das gleiche auch für den umgekehrten Fall anzunehmen, als das Gegenteil zu behaupten, um so mehr, als es für vier Chromosomen in der Tat zutrifft. Wir gelangen damit zu einer einheitlichen Auffassung der in ihren Resultaten so verschiedenen Kombinationen *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ und *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂, mit der auch die beiden Kombinationen von *Strong* und *Ech* und wahrscheinlich auch von *Sphaer* und *Ech* übereinstimmen.

Für die Frage nach der Art der bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ stattfindenden Ausstoßung von Kern- und Plasmamaterial ins Blastocoel, welche mit der Erkrankung Hand in Hand geht, verweise ich auf das im speziellen Teil Gesagte (S. 531 und 532). Hier wiederhole ich nur, daß allem Anschein nach diese Ausstoßung bei den *Sphaer* ♂-Kombinationen größtenteils nur das zu Beginn der Furchung eliminierte Chromatin betrifft, welches sich späterhin noch vermehrt hat.

Anders liegen die Dinge bei den *Arb*-Bastarden. Ich fuße dabei hauptsächlich auf den bei *Strong* ♀ × *Arb* ♂ gemachten Beobachtungen. Weil die specifischen Eigenschaften des *Arb*-Chromatins nicht mit den Bedingungen vereinbar sind, welche das *Strong*-Plasma[1]) bietet, werden die Blastulakerne, welche alle das *Arb*-Chromatin noch enthalten, zu Beginn der Periode specifischer Chromosomentätigkeit krank und können nur dann gesund werden, wenn die Elimination dieses Chromatins gelingt. Im günstigen Fall ist das bei den meisten Kernen möglich. Immerhin scheint jedoch ein Teil der Kerne pathologisch zu bleiben und samt Plasmamaterial in das Blastocoel ausgestoßen zu werden. Dementsprechend finden wir in späteren Blastulastadien im Innern des Blastocoels noch Klumpen von degenerierendem Plasma, welches zahlreiche ganze kranke Kerne enthält. Bei weitaus den meisten Keimen erscheint aber eine Elimination überhaupt nicht in genügendem Maße durchführbar. Die Kerne bleiben sämtlich krank. Das Blastocoel ist mit pathologischem Material erfüllt. Die Keime sterben als Stereoblastulae ab. Große Chromatinansammlungen entstehen bei dieser Art Elimination nicht, indem die Chromatinmenge, welche aus jedem einzelnen Kern ausgestoßen wird, relativ nur klein ist.

Einer kurzen Betrachtung müssen wir noch die Ausnahmefälle der

[1]) Dasselbe gilt wahrscheinlich auch für das *Ech*-Plasma.

Kombination *Strong* ♀ × *Arb* ♂ unterziehen, wobei jedoch von vornherein betont sei, daß die Herkunft dieser Fälle nicht ganz sicher gestellt ist. Es hat sich gezeigt, daß zuweilen eine Elimination nicht stattfindet, der Keim sich aber trotzdem bis zum Pluteus entwickelt. Ich beziehe mich besonders auf den in Tabelle auf S. 573 angegebenen Pluteus von VI und den einen Pluteus von IV mit aberrantem Skelet. Diese Fälle können wir mit einiger Wahrscheinlichkeit als wirkliche Bastarde ansehen. Sie zeigen unter dieser Voraussetzung, wenn wir von der an Hand des typischen Falles entwickelten Anschauung ausgehen, daß der Gegensatz zwischen *Strong*-Plasma und *Arb*-Chromatin unter Umständen ausgeglichen werden kann. Gleichzeitig zeigt sich aber auch durch die Entwicklung des Skelets, daß das *Arb*-Chromatin mehr oder weniger inaktiviert wird, immerhin aber seine Anwesenheit zu Störungen in der Skeletbildung führen kann.

An diese Ausnahmen schließen sich die Bastarde an, bei denen der Spermakern von *Antedon* stammt. Untersucht wurden die Kombinationen *Ech* ♀ × *Ant* ♂ und *Strong* ♀ × *Ant* ♂. Bei diesen verbleibt das fremde Chromatin in den Kernen, durchaus passiv gleichsam als Fremdkörper, denn das Skelet zeigt nur mütterliche Charaktere. Doch tritt auch hier im Blastulastadium eine Erkrankung des Keimes ein, worin sich der für die Entwicklung schädliche Einfluß des im Plasma fremden *Ant*-Chromatins dokumentiert.

d) Die Sistierung der Entwicklung.

Nach dem Gesagten hat die Sistierung der Entwicklung in den Bastarden mit *Sphaer* ♂ einerseits, mit *Arb* ♂ und *Ant* ♂ anderseits eine verschiedene Ursache — abgesehen natürlich davon, daß in beiden Fällen in letzter Linie das abnorme Verhalten des väterlichen Chromatins die Schuld trägt.

Die Sistierung der Entwicklung des Keimes *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ wird vor allem darin seine Ursache haben, daß die Weiterentwicklung, die Gastrulation, die Bildung des Mesenchymzellenrings deshalb nicht möglich ist, weil die Blastulahöhle mit Zell- und Chromatinmassen erfüllt ist. Ausgeschlossen bleibt dabei natürlich nicht, daß auch die Degeneration dieser Massen auf die Weiterentwicklung hemmend einwirkt.

Bei dem Bastard *Strong* ♀ × *Arb* ♂ aber sistiert die Entwicklung, weil ein normales Zusammenwirken des *Strong*-Plasmas und des *Arb*-Chromatins nicht möglich ist, sobald die specifischen Qualitäten des Chromatins wirksam werden. Hier erkranken die einzelnen Zellen und

können nur dann gesunden, wenn das *Arb*-Chromatin entfernt wird. Von den schon besprochenen Ausnahmen ohne Elimination sehe ich dabei ab. Eine Entwicklungshemmung durch die im Blastocoel degenerierenden Zell- und Kernmengen könnte nur sekundäre Bedeutung haben.

Bei den Bastarden *Strong* ♀ × *Ant* ♂ und *Ech* ♀ × *Ant* ♂ verbleibt das *Antedon*-Chromatin, wie schon GODLEWSKI erkannte, in allen Kernen während der ganzen Entwicklung bis zum Pluteus. Jedoch tritt eine zeitweilige Sistierung der Entwicklung auch hier ein, vermutlich aus dem gleichen Grunde wie bei den *Arb* ♂-Bastarden.

II. Die Bedeutung der Chromosomen und des Plasmas für die Vererbung.

In dieser Hinsicht gestattet unsre Bastarduntersuchung einige bedeutungsvolle Schlüsse. Das schlagendste Resultat liefern die beiden Kombinationen zwischen *Sphaer* und *Strong*. Bei *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ enthalten die Plutei in ihren Kernen die Chromosomen beider Eltern. Das Skelet zeigt in der Regel einen Mischtypus zwischen den Charakteren beider Species. Bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ dagegen enthalten die Kerne der Plutei außer allen mütterlichen *Strong*-Chromosomen nur vier *Sphaer*-Elemente[1]). Das Skelet dieser Bastardplutei ist fast immer rein mütterlich. Die sehr geringen Abweichungen sind wahrscheinlich, soweit meine eigenen Untersuchungen reichen, nicht als Anklänge an *Sphaer*, sondern als Abnormitäten ohne bestimmten Speciescharakter anzusehen. Nach den Angaben von VERNON über den gleichen Bastard sowie über die entsprechende Kombination *Ech* ♀ × *Sphaer* ♂, darf man dasselbe annehmen. Auch FISCHELS Angaben können in diesem Sinne aufgefaßt werden (vgl. S. 521). Nur MORGANS Untersuchung spricht eher dafür, daß auch ein geringes Maß von väterlichen Skeletcharakteren ausgebildet sein kann. Stets aber ist doch der väterliche Einfluß, sofern er überhaupt vorhanden, ganz gering.

Es treten also in denjenigen Larven, deren Kerne überwiegend mütterliches Chromatin enthalten, fast oder ganz ausschließlich mütterliche Skeletcharaktere auf, während in den andern, deren Kerne das gesamte Chromatin beider Eltern besitzen, das Skelet von der väterlichen Seite ebenso stark beeinflußt wird wie von der mütterlichen. Die Ausbildung der väterlichen Skeletcharaktere geht mit der Anwesenheit des väterlichen Chromatins parallel.

---

[1]) Ein gleiches dürfen wir für *Ech* ♀ × *Sphaer* ♂ als wahrscheinlich ansehen, während *Arb* ♀ × *Sphaer* ♂ noch ausschließlicher nur mütterliches Chromatin enthält.

Sehen wir zu, wie sich dieses Resultat zu den verschiedenen Anschauungen über die Vererbung stellt. Es ist ein Hauptstreitpunkt zwischen den Autoren, ob bei der Vererbung der elterlichen Merkmale nur das Chromatin oder auch das Plasma eine Rolle spielt. Ich verweise, was die Literatur dieser Streitfrage anlangt, auf das zusammenfassende Buch von Godlewski (1909). Dieser Autor ist darin der Ansicht, »daß an der Determinierung der Vererbungsrichtung nie der Kern allein, nie das Protoplasma allein, sondern stets beide Zellbestandteile teilnehmen.« Ferner: »Im Kern also und im Protoplasma sind die Substanzen enthalten, welche die Richtung der Gestaltungsvorgänge determinieren, den Weg der Entwicklung bestimmen, welchen der Organismus zurücklegt, um zu seinem Endziel zu gelangen. Ich halte aber das Lokalisationsproblem nicht für definitiv erledigt« (l. c. S. 275). Dem gegenüber steht die Anschauung von Boveri (1889, 1903, 1907), »daß die Übertragung der specifischen Merkmale von den Eltern auf das Kind durch die Chromosomen von Ei- und Spermakern geschieht« (1907, S. 260). Einen verwandten Standpunkt nimmt Herbst ein. Bestimmend für die Vererbungsrichtung ist auch nach ihm das Chromatin und dabei wahrscheinlich »das Mengenverhältnis der elterlichen Kernsubstanzen« (1909, S. 304). Unser Ergebnis an den genannten *Sphaer*-Bastarden spricht deutlich zugunsten einer Annahme, welche dem Chromatin allein die Bestimmung des specifischen Larvencharakters zuweist.

Fragen wir nach dem Einfluß, den bei unsren Fällen das Protoplasma haben könnte, so müssen wir einige Bemerkungen vorausschicken. Wenn wir von der Rolle des Plasmas bei der Vererbung im allgemeinen sprechen, so muß es sich ebenso sehr um das väterliche Plasma handeln, wie um das mütterliche. Denn die Frage des Vererbungsproblems lautet, auf unsre Materie angewendet: Warum kann in einem Fall das aus dem befruchteten Ei sich entwickelnde Echiniden-Individuum dem Vater ebenso ähnlich sein wie der Mutter? Warum ist es im andern Fall nur der Mutter ähnlich? — Die besondere Rolle, welche das Eiprotoplasma während der ersten Entwicklung spielt, kommt hier nicht in Betracht. Daß die specifischen Eigentümlichkeiten der frühesten Entwicklungsvorgänge vom Eiprotoplasma bestimmt werden, ist, soviel ich sehe, allgemein angenommen.

In unserm Bastard *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ liegt nun ein Fall vor mit meistens, ja fast immer, rein mütterlicher Vererbungsrichtung. Mit dem Chromosomenbefund stimmt das, wie wir gesehen haben, aufs beste zusammen; denn die väterlichen Elemente sind größtenteils eliminiert. Nach der Ansicht Godlewskis müßte man für diesen Fall annehmen,

daß auch das Spermaprotoplasma ausgeschaltet sei oder wenigstens keine aktive Rolle spiele. Wir haben für diese Annahme keine sichere Grundlage. Freilich würde sich ein solcher Vorgang bei unsern gegenwärtigen Hilfsmitteln der Beobachtung entziehen.

Wir stehen damit vor folgender Wahl: Entweder, wir halten uns an die beobachteten Vorgänge, an die Elimination der Chromosomen — dann spricht unsre Untersuchung zugunsten der Vererbung durch das Chromatin. Oder, wir legen das Hauptgewicht auf unbeobachtete, auch durch keine Indizien wahrscheinlich gemachte Vorgänge, die Elimination oder Inaktivierung des Spermaprotoplasmas — dann läßt sich die Annahme von der Vererbung durch das Protoplasma halten. Es ist klar, daß wir uns vorderhand auf die Seite der Vererbung durch das Chromatin stellen.

Damit ist, glaube ich, die Frage, welche Rolle das Plasma bei der Übertragung der Speciesmerkmale in den genannten Bastarden spielt, in einem für das Plasma ungünstigen Sinne entschieden. Wie schon gesagt wurde, hat Morgan Bastarde gezüchtet, die ein schwaches Hervortreten der väterlichen Skeleteigenschaften denkbar erscheinen ließen. Nur in diesen Fällen könnte noch an einen Einfluß des Spermaplasmas gedacht werden. Wir würden jedoch damit auf eine einheitliche Erklärung verzichten, abgesehen davon, daß auch hier die Rolle eine untergeordnete wäre. — Außerdem ist es nicht schwierig, auch diese Erscheinung auf Grund der Chromosomenverhältnisse zu erklären. Wir haben mitunter Eier gefunden, in denen die Elimination allem Anschein nach nicht so vollständig durchgeführt wurde wie gewöhnlich. Es wurden in einzelnen Fällen (S. 529 und 530) 24 Chromosomen in den normalen Platten gezählt, während der Durchschnittswert zwischen 21 und 22 liegt. Die Möglichkeit ist somit nicht ausgeschlossen, daß in einzelnen Fällen eine größere Zahl von *Sphaer*-Chromosomen in die Kerne der Plutei gelangen. Ein Hervortreten väterlicher Charaktere im Skelet wäre damit in Beziehung zu bringen.

Wir wenden uns nun zu den Kombinationen, bei denen *Arb* als Spermakern beteiligt ist. Dabei kommen besonders die Ergebnisse an *Strong* ♀ × *Arb* ♂, als dem am besten untersuchten Bastard in Betracht. Dieselben stehen, soweit sie den typischen Fall betreffen, mit der durch die *Sphaer* ♂-Bastarde gegebenen Auffassung im Einklang. Die Plutei, welche wir erhalten konnten, sind im Skelet rein oder fast rein mütterlich. Sie besitzen in ihren Kernen nur wenig mehr als die Hälfte des Chromatins, welches ihnen zukäme, wenn wir *Strong*- und *Arb*-Chromatin

zusammenrechnen. — Indessen ist der Beweis hier nicht vollständig, denn es konnte nicht wie bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ nachgewiesen werden, daß nur mehr mütterliches Chromatin in den Pluteuskernen enthalten ist. Doch ist dies an Hand der Analogien mit den Ergebnissen der *Sphaer* ♂-Bastarde in hohem Grade wahrscheinlich. Auch fällt wiederum die charakteristische Parallele zwischen rein mütterlicher Vererbungsrichtung und Elimination eines Teiles des Chromatins auf.

Neben diesem typischen Fall haben sich einige interessante, allerdings in ihrer Herkunft nicht ganz sichere, Ausnahmen (S. 573 ff.) gefunden. Es kann vorkommen, daß die Plutei nicht verkleinerte, sondern ungefähr gleich große Kerne haben, wie die Larven der Kontrollkultur. In solchen Fällen traten entweder Störungen oder ein geringes Maß von *Arb*-Charakteren in der Skeletbildung auf, was sich wohl gerade auf die Anwesenheit des *Arb*-Chromatins zurückführen dürfte. Über die Herkunft dieser Larven verweise ich auf das im speziellen Teil Gesagte. Sehen wir sie als richtige Bastarde an, so müssen wir wohl annehmen, daß das *Arb*-Chromatin auf die Entwicklung nicht den vollen Einfluß ausgeübt hat. Es ist mehr oder weniger passiv geblieben.

Wenn wir die Reihe der Plutei vergleichen, die wir bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ und bei *Strong* ♀ × *Arb* ♂ gezogen haben, so fällt die größere Variabilität in der Skeletbildung bei der *Arb* ♂-Kombination auf. Die mütterlichen Charaktere sind bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ reiner ausgebildet. Die Skelete von *Strong* ♀ × *Arb* ♂ zeigen auch im typischen Fall mehr Störungen und auch mehr Abweichungen, die als Anklänge an *Arb* aufgefaßt werden können. Wir dürfen dies wohl auf den Unterschied zurückführen, der in der Art der Elimination zwischen beiden Bastarden besteht. Die väterlichen Chromosomen, von denen nach unsrer Auffassung die für den Vater specifische Skeletbildung abhängt, werden bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ zu Anfang der Furchung eliminiert. Bei *Strong* ♀ × *Arb* ♂ dagegen tritt die Ausschaltung des väterlichen Chromatins erst im Blastulastadium und sehr wahrscheinlich bei den ruhenden Kernen ein. Es ist klar, daß dieser Vorgang beträchtlich weniger exakt sein wird als die Elimination ganzer Chromosomen und daraus dürfte die variablere Skeletbildung zu verstehen sein. Außerdem trifft er mit der Bildung des Skelets zeitlich viel näher zusammen als die Elimination bei der *Sphaer* ♂-Kombination, so daß auch daraus Störungen leichter resultieren könnten.

An die Ausnahmefälle bei *Strong* ♀ × *Arb* ♂ schließen sich die *Antedon* ♂-Bastarde an. Die Plutei *Strong* ♀ × *Ant* ♂ und *Ech* ♀ × *Ant* ♂ besitzen rein mütterliches, häufig allerdings auch unregelmäßiges

Skelet. Die Kerne sind nicht verkleinert; sie enthalten das *Ant*-Chromatin, jedoch, wie die Analogie zu *Strong* ♀ × *Arb* ♂ wahrscheinlich macht, in passivem Zustand. — Noch eine weitere Parallele können wir ziehen. Wie bei den *Arb* ♂-Bastarden setzt eine Erkrankung ein und sistiert die Entwicklung. Sie wird, wie weiter oben wahrscheinlich gemacht wurde und wie schon Boveri (1907, S. 255) vermutet hatte, hervorgerufen durch den Gegensatz, der zwischen den *Antedon*-Chromosomen und dem *Strong*- oder *Ech*-Plasma entsteht, sobald die specifischen Qualitäten der Chromosomen wirksam werden.

Mit den umfangreichen Untersuchungen Godlewskis (1906) stimmen meine Beobachtungen gut überein. Die Deutung, welche Godlewski gibt, ist jedoch eine andre. Aus der Tatsache, daß die Larven in ihren Kernen das väterliche Chromatin enthalten, trotzdem aber rein mütterliches Skelet entwickeln, ist er geneigt, die ausschlaggebende Rolle des Chromatins bei der Entwicklung des Organismus zu bestreiten. Es existiert »kein einziger Anhaltspunkt zu der Behauptung, daß neben der Kernsubstanz das Protoplasma auch in späteren Entwicklungsstadien an der Übertragung der erblichen Merkmale nicht teilnimmt« (1909, S. 180). Ferner: Man kann, »dem Protoplasma ebenso wie dem Kern eine Rolle bei den Vererbungserscheinungen zuschreiben« (1909, S. 274).

Wir haben jedoch gesehen, daß die Befunde vor allem an *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂, sehr wahrscheinlich auch an *Strong* ♀ × *Arb* ♂ (typischer Fall) dieser Auffassung entgegenstehen. Nach den angestellten Erörterungen dürften sich auch die Beobachtungen an *Antedon* ♂-Bastarden diesen Befunden anschließen und für die Auffassung Godlewskis keine Stütze mehr bilden, mögen die den Übergang bildenden Ausnahmefälle bei *Strong* ♀ × *Arb* ♂ richtig gedeutet sein oder nicht.

III. Die specifische Natur der Chromosomen. Zur Theorie von der qualitativen Verschiedenheit der Chromosomen.

Die Kombination *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ läßt uns einige Schlüsse auf die Natur der Chromosomen ziehen, welche sämtlich mit der Theorie der qualitativen Verschiedenheit der Chromosomen harmonieren (vgl. Boveri, 1902, 1904, 1907). Wir sehen, daß in den ersten Teilungen dieser Kombination 16 *Sphaer*-Chromosomen eliminiert werden, vier aber nicht. Es folgt daraus, daß im Chromosomenbestand von *Sphaer* zwei Gruppen zu unterscheiden sind, die sich im Verhalten gegenüber dem die Elimination herbeiführenden Faktor unterscheiden. Wie also meine früheren morphologischen Untersuchungen (1909 b) der Annahme einer

specifischen Verschiedenheit zwischen den einzelnen Chromosomen des gleichen Kernes entschieden das Wort redeten, so haben wir hier einen neuen physiologischen Beleg für diese Theorie, der um so wertvoller sein dürfte, als der Weg, auf dem er gewonnen wurde, von demjenigen Boveris (Dispermieversuche) völlig verschieden ist. Zwar ist mein Resultat insofern unvollkommen, als es nur zeigt, daß in einer ganz bestimmten Hinsicht vier Chromosomen sich von allen übrigen des gleichen Vorkerns unterscheiden. Dafür aber ist das Vorhandensein dieses Unterschieds durch die Befunde in so einfacher und sicherer Weise demonstriert, daß es nicht komplizierter Überlegungen bedarf, um sich davon zu überzeugen.

Das Zuchtergebnis liefert jedoch noch einen weiteren Aufschluß. Jene vier Elemente sind höchst wahrscheinlich auch in den Kernen des Pluteus enthalten. Trotzdem aber trägt dessen Skelet in weitaus den meisten Fällen rein mütterlichen Charakter. Nach der Boverischen Theorie, wonach die Determinierung der Entwicklung in den Chromosomen liegt und zu deren Gunsten unsre Bastardversuche sprechen, können wir mit einiger Wahrscheinlichkeit einen Schluß auf die Natur dieser vier Elemente ziehen, nämlich, daß sie zu der Ausbildung der Skeletcharaktere in keinerlei Beziehung stehen. Die Vererbungsqualitäten der Skeletbildung müssen in einer Gruppe oder in einzelnen jener 16 Chromosomen liegen, die eliminiert werden. Wir kommen damit zu der von Boveri aufgestellten Hypothese, wonach die Determinierung der bestimmten Gestaltungsvorgänge einzelnen Chromosomen oder Chromosomengruppen zufällt.

Es liegt nahe, an Hand unsrer Beobachtungen auch die Vererbungshypothese von Herbst (1906 b, 1907, 1909) zu prüfen. Nach Herbst wird die Vererbungsrichtung durch das Mengenverhältnis der elterlichen Kernsubstanzen bestimmt. Man sollte also, wenn in den Kernen des Bastardpluteus *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ neben den 18 mütterlichen noch vier väterliche Chromosomen vorhanden sind, einen geringen väterlichen Einschlag im Skeletcharakter erwarten. In vielen Fällen trifft das sicher nicht zu. Zuweilen kommen freilich Skeletformen vor, die möglicherweise als *Sphaer*-Charakter angesehen werden können. Es ist nun, wenn wir die Herbstsche Ansicht als richtig annehmen, die Frage, ob schon vier *Sphaer*-Chromosomen ein immer nachweisbares Abweichen des Skelets vom mütterlichen Typus ergeben müßten. Herbst gibt uns dafür in seinen Arbeiten selbst Anhaltspunkte. Bekanntlich gab er Eiern von *Sphaer* vor der Besamung mit *Strong*-Sperma einen geringen Anstoß zur Parthenogenese und erhielt in diesen Kulturen Plutei mit

mutterwärts verschobener Vererbungsrichtung. Er hat häufig auch Plutei mit asymmetrischem Skelet gefunden, in denen auf der einen Seite die mütterlichen Charaktere stärker hervortraten wie auf der andern und darunter auch solche, bei denen wir »mit unsern gewöhnlichen Mitteln keine auffallende Größendifferenz zwischen den Kernen . . . konstatieren können«. Er hält es trotzdem für möglich, »daß auch in einem solchen Falle die Kerne der einen Larvenseite etwas mehr väterliches Chromatin erhalten haben als die andern« (1909, S. 299). Darnach müssen wir schon einem geringen Chromatinbetrag, und ein solcher liegt bei unserm Bastard in den vier *Sphaer*-Elementen vor, einen Einfluß auf die Vererbungsrichtung zuerkennen. Wir müßten also in allen unsern Bastardplutei einen geringen väterlichen Einschlag finden, und können, da ein solcher meistens fehlt, uns nicht auf Seite der HERBSTschen Hypothese stellen.

Aber auch abgesehen davon kann man die von HERBST für seine Auffassung vorgebrachten Argumente nicht als durchaus zwingend anerkennen. Schon GODLEWSKI (1909) hat darauf hingewiesen, daß die cytologischen Beobachtungen, die HERBST in seiner letzten Mitteilung (1909) gegeben hat, den Voraussetzungen nicht genau entsprechen, welche auf Grund der Untersuchung der Plutei und ihrer Kerne gemacht werden mußten. Dies ist auch nicht unerklärlich. Die Kulturen, deren Plutei untersucht wurden, sind andre als diejenigen, welche das Material zur cytologischen Untersuchung geliefert haben. Sie stammen aus verschiedenen Jahren (1906 und 1907), allem Anschein nach von verschiedenen Orten (Neapel und Villefranche) und unterscheiden sich, was auch GODLEWSKI betont hat, nicht unwesentlich. In den Kulturen der Studie V führte der Anstoß zur Parthenogenese sehr häufig zur Bildung eines Monasters und damit zur Verdoppelung des mütterlichen Chromatins. In keinem der cytologischen Bilder der Studie VI ist ein solcher Monaster zu finden, noch ist im Text etwas über ein derartiges Vorkommen erwähnt. Man wird einräumen müssen, daß dies ein für das Mengenverhältnis des Chromatins wichtiger Punkt ist. Es erscheint mir für eine scharfe Beweisführung notwendig, daß die Untersuchung der Plutei und der ersten Furchungsstadien an der gleichen Versuchsserie durchgeführt wird.

In einer andern Richtung führen uns die Beobachtungen an *Strong* ♀ × *Arb* ♂ und *Strong* ♂ oder *Ech* ♀ × *Arb* ♂ zu einigen Schlüssen. GODLEWSKI (1906) hält bei dem Bastard *Ech* ♀ × *Ant* ♂ für wahrscheinlich, »daß die *Antedon*-Chromosomen unter dem Einfluß des sie umgeben-

den Protoplasmas des *Echinus*-Eies sich derart verändern, daß sie die morphologische Gestalt und Beschaffenheit der Chromosomen von *Echinus* annehmen« (l. c. S. 606). Eine solche Veränderung konnte ich (S. 584) als unwahrscheinlich nachweisen, einen geschlossenen Beweis jedoch aus Mangel an Material nicht führen. Sicherer ist in dieser Beziehung das an *Strong* ♀ × *Arb* ♂ gewonnene Resultat. Da zeigte sich, wenigstens für die ersten Furchungsteilungen, daß die *Arb*-Chromosomen im Protoplasma ihre charakteristische Gestalt beibehalten. Ich habe überhaupt keinen Bastard gefunden, in dem nicht in frühen Stadien die Chromosomen nach Größe oder Form ihre Herkunft hätten bestimmen lassen, soweit Unterschiede zwischen den Elementen der beiden kombinierten Species vorhanden waren, und vorausgesetzt natürlich, daß alle Chromosomen die Karyokinese in typischer Weise mitmachten.

IV. Über die Beziehung zwischen dem Verhalten des Chromatins und der Verwandtschaft der Species. Schluß.

Wir sind am Ende unsrer Betrachtung angelangt. In der beistehenden Tabelle sind die Hauptresultate zusammengestellt, außerdem auch die Ergebnisse von Vernon (1898, S. 508) hinzugefügt, welche eine wertvolle Ergänzung bilden. Die Parallelen zwischen Chromatin und Skeletausbildung, zwischen dem Verhalten des Chromatins und der Erkrankung und endlich zwischen Erkrankung und Skeletausbildung treten deutlich hervor.

Es ist noch kurz zu untersuchen, ob zwischen dem Verhalten des Chromatins bei den Bastarden und der Verwandtschaft der beiden elterlichen Species eine Beziehung existiert. In der Tat läßt sich eine solche wahrscheinlich machen. Außer Betracht fallen die *Sphaer* ♂-Bastarde, denn die Elimination in diesen Kombinationen ist andrer Art wie bei den übrigen Bastarden. Die Frage, welche wir untersuchen, lautet, näher gefaßt, folgendermaßen: Steht mit der Verwandtschaft[1]) der bastardierten Species auch die Fähigkeit der Chromosomen in Beziehung, im Plasma der andern Species ihre specifischen Vererbungsqualitäten zu entfalten? D. h. entspricht der Verwandtschaft der Tiere auch eine Verwandtschaft des Chromatins?

Nach ihrer Verwandtschaft lassen sich die von uns verwendeten Species in folgende Reihe stellen:

Ech, *Strong*, *Sphaer*; *Arb*, — *Antedon*.

[1]) Im Sinne des natürlichen Systems und vor allem der Ontogenese.

Aus der Tabelle ist zu ersehen, zwischen welchen Species eine gegenseitige Verpflanzung der Chromosomen möglich ist, ohne daß in der Entwicklung Abnormitäten eintreten. Es ist dies möglich zwischen *Ech* und *Strong*. Ferner zwischen *Ech* und *Sphaer* und zwischen *Strong* und *Sphaer*. Soweit entspricht also die Verwandtschaft im Chromatin der natürlichen Verwandtschaft der drei Species.

Dagegen ist aus der Tabelle zu ersehen, daß in den Kombinationen mit *Arb* die Entwicklung anormal verläuft.

Erkrankung und Elimination bei *Ech* ♀ × *Arb* ♂
Strong ♀ × *Arb* ♂.
Erkrankung bei *Sphaer* ♀ × *Arb* ♂
Arb ♀ × *Ech* ♂
Arb ♀ × *Strong* ♂.

Die geringere Verwandtschaft zwischen den Species geht also hier Hand in Hand mit einer geringeren Verwandtschaft des Chromatins. Das gleiche können wir für die Kombinationen mit *Antedon* ♂ sagen, bei denen eine Erkrankung, nicht jedoch eine Elimination eintritt.

In den bescheidenen Grenzen der fünf verwendeten Species kommen wir also zu der Annahme, daß der Verwandtschaft zwischen den Species auch eine Verwandtschaft im Chromatin entspricht, und zwar in Hinsicht auf die in den Chromosomen enthaltenen Vererbungspotenzen.

Daraus folgt weiter, daß im allgemeinen bei entfernt verwandten Species im Fall der Bastardierung die Vererbungsrichtung mütterlich sein muß, weil die väterlichen Chromosomen keinen Einfluß mehr auszuüben vermögen (vgl. Boveri, 1907, S. 255). Die Tabelle zeigt auch diese Tatsache. Wenn wir aus dem oben genannten Grund von den *Sphaer* ♂-Bastarden absehen, haben wir bei den Bastarden zwischen den drei nahe verwandten Species *Ech*, *Strong* und *Sphaer* mehr oder weniger intermediäre Larven:

Ech ♀ × *Strong* ♂
Strong ♀ × *Ech* ♂
Sphaer ♀ × *Ech* ♂
Sphaer ♀ × *Strong* ♂.

Bei den Bastarden mit *Arbacia* aber sind die Larven fast ausschließlich mütterlich. Bei den *Antedon*-Bastarden sind sie immer mütterlich.

Einige Literaturangaben seien hier angefügt: Vernon (1898) hat erfolgreich *Strong* ♀ mit *Dorocidaris* gekreuzt. Die Plutei waren mütterlich. Ferner hat *Echinocardium cordatum*, mit dem Samen aller unsrer vier Echinidenspecies befruchtet, in allen vier Fällen mütterliche Plutei her-

					Pluteus nach Vernon.
Ech ♀ × *Strong* ♂ . .	ohne Chromosomen-Elimination	Entwicklung ohne Erkrankung	In den Kernen der Plutei alles väterliche u. mütterliche Chromatin enthalten	Plutei	intermediär
Strong ♀ × *Ech* ♂ . .	do.	do.	do.	Plutei	mütterlich-intermediär
Ech ♀ × *Sphaer* ♂ . .	Elimination auf 21 Chromosomen während d. ersten Furchungen	Erkrankung vor dem Blastulastadium	In den Kernen der Plutei ganz vorwiegend mütterliches Chromatin enthalten	Plutei. Skelet mütterlich	mütterlich
Sphaer ♀ × *Ech* ♂ . .	ohne Chromosomen-Elimination	Entwicklung ohne Erkrankung	In den Kernen der Plutei alles väterliche u. mütterliche Chromatin enthalten	Plutei. Skelet intermediär	intermediär
Strong ♀ × *Sphaer* ♂ .	Elimination auf 21 Chromosomen während d. ersten Furchungen	Erkrankung vor dem Blastulastadium	In den Kernen der Plutei ganz vorwiegend mütterliches Chromatin enthalten	Plutei. Skelet mütterlich	mütterlich
Sphaer ♀ × *Strong* ♂ .	ohne Chromosomen-Elimination	Entwicklung ohne Erkrankung	In den Kernen der Plutei alles väterliche u. mütterliche Chromatin enthalten	Plutei. Skelet intermediär	intermediär
Ech ♀ × *Arb* ♂ . . .	mit Chromatin-Elimination im Blastulastadium	Erkrankung im Blastulastadium			mütterlich

Arb ♀ × *Ech* ♂ . . .	Elimination auf 28 bis 30 Chromosomen während der ersten Furchungen	Erkrankung vor oder während des Blastulastadiums	In den Kernen der Plutei mütterliches und väterliches Chromatin enthalten	Plutei. Skelet stark aberrant, vorwiegend mütterlich	mütterlich
Strong ♀ × *Arb* ♂ . .	mit Chromatin-Elimination im Blastulastadium	Erkrankung im Blastulastadium	In den Kernen der Plutei nur die Hälfte des normalerweise zu erwartenden Chromatins enthalten	Plutei. Skelet mütterlich	mütterlich
Arb ♀ × *Strong* ♂ . .	Elimination auf 28 bis 30 Chromosomen während der ersten Furchungen	Erkrankung vor oder während des Blastulastadiums	In den Kernen der Plutei mütterliches und väterliches Chromatin enthalten	Plutei. Skelet vorwiegend mütterlich, stark aberrant	mütterlich
Sphaer ♀ × *Arb* ♂ . .	ohne Elimination	Erkrankung im Blastulastadium	In den Kernen der Plutei mütterliches und väterliches Chromatin enthalten	Plutei. Skelet vorwiegend mütterlich	mütterlich-intermediär
Arb ♀ × *Sphaer* ♂ . .	Elimination auf 21 Chromosomen während der ersten Furchungen	Erkrankung vor oder während des Blastulastadiums			
Ech ♀ × *Anted* ♂ . .	ohne Elimination	Erkrankung im Blastulastadium	In den Kernen der Plutei alles väterliche und mütterliche Chromatin enthalten	Plutei. Skelet mütterlich	
Strong ♀ × *Anted* ♂ .	do.	do.	do.	do.	

vorgebracht. Ebenso bei der Kombination *Echinocardium cordatum* ♂ × *Echinus microtuberculatus* ♀. Eine Ausnahme dagegen scheint *Echinocardium mediterraneum* zu machen, aus dessen mit *Strong*- oder *Ech*-Samen befruchteten Eiern Vernon zwei intermediäre Plutei züchtete, allerdings, wie er selbst sagt (l. c. S. 504), von stark aberrantem Typus. Es wäre nach dieser Angabe nicht unmöglich, daß wir es nicht mit intermediären, sondern mit mütterlichen, aber unentwickelten und gestörten Skeletcharakteren zu tun haben (vgl. Vernons Fig. 25 und 26). Im übrigen setzt auch bei dieser Kombination nach Erreichung des Blastulastadiums eine starke Erkrankung ein. So schreibt Vernon für *Echinocardium* ♀ × *Ech* ♂: "No less than 46,4 per cent of the ova reached the blastula stage, but these rapidly died off a day or two later and only two definit plutei were obtained" (S. 504, l. c.). — Ferner sind hier Loebs Kreuzungen von Echiniden und Asteriden (1904) zu erwähnen. Die Larven waren ebenfalls rein mütterlich. Es bilden sich Plutei aus ohne Bipinnarienmerkmale. Endlich seien noch die Bastarde *Strong. purpuratus* ♀ × *Asterias* ♂ und *Strong. franciscanus* ♀ × *Asterias* ♂ erwähnt, die von Hagedoorn (1909) gezogen wurden. Die Plutei haben auch hier mütterlichen Charakter. — Ebenso gehören hierher die Bastardierungen zwischen Echiniden und Mollusken. Loeb (1908) züchtete die Kombination *Strongylocentrotus franciscanus* ♀ × *Chlorostoma funebrale* ♂. Kupelwieser (1909) *Echinus microtuberculatus* ♀ × *Mytilus galloprovincialis* ♂. Beide Autoren erhielten Plutei. Die Vererbungsrichtung ist rein mütterlich. Von den vorhergehenden Kreuzungen weichen sie insofern ab, als der Spermakern wahrscheinlich bei beiden, sicher bei der *Mytilus*-Kombination sich an der Furchung überhaupt nicht beteiligt.

Auf eine interessante Kombination muß mit einem Wort noch kurz eingegangen werden. Es sind die von Hagedoorn (1909) gezüchteten Bastarde zwischen zwei *Strongylocentrotus*-Species: *Strong. franciscanus* und *Strong. purpuratus*.

Die beiden hier möglichen Kombinationen geben Plutei mit mütterlichen Skeletcharakteren . Leider hat Hagedoorn keine cytologischen Untersuchungen angestellt, weder in den ersten Furchungsstadien, noch in Hinsicht auf die Größe der Kerne des Pluteus. Ehe man seine Ergebnisse weiter verwerten kann, ist eine cytologische Untersuchung im Hinblick auf die Resultate bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ dringend notwendig. —

Fassen wir zusammen, so scheinen auch in weiteren Grenzen die Bastardforschungen an Echinodermen zu lehren, daß mit der Verwandtschaft der bastardierten Species auch die Verwandtschaft in den specifischen Vererbungsqualitäten der Chromosomen abnimmt, und damit die Mög-

lichkeit für die Spermachromosomen, in dem Plasma der fremden Species ihre specifischen Qualitäten zum Ausdruck zu bringen. Es ist klar, daß dies mit der Auffassung der Chromosomen als Vererbungsträger gut zusammenstimmt. Das Eintreten einer Elimination des fremden Chromatins dagegen scheint mit der Verwandtschaft der Species nicht in direktem Zusammenhang zu stehen.

Falsche Bastarde. Wenn man diejenigen unsrer Bastardkombinationen, bei denen nur mütterliche Merkmale ausgebildet werden, lediglich auf ihren Enderfolg betrachtet, so könnte man auf den Gedanken kommen, sie unter die Bastarde mit alternativer Vererbung zu rechnen. Es ist jedoch klar, daß damit das Wesen der Sache nicht getroffen würde. Die alternative Vererbung besteht, um die Worte GODLEWSKIS zu gebrauchen, darin, »daß in dem Nachkommenorganismus die Merkmale erscheinen, welche nur einen elterlichen Organismus charakterisiert haben, während die des andern elterlichen Teiles in dem Nachkommen überhaupt nicht auftreten, bzw. in ihm in latentem Zustande bleiben. Solche Merkmale können durch wiederholten Kreuzungsprozeß wieder hervorgerufen werden«. Ich nehme den Bastard *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ als Beispiel. Die väterlichen Skeletcharaktere fehlen, wenn unsre Deutung richtig ist, auf Grund der Elimination des größten Teiles der väterlichen Chromosomen. Ein Wiederauftauchen dieser Skeletcharaktere in einer nächsten Generation ist ausgeschlossen, denn die Elimination der väterlichen Chromosomen ist definitiv. Wäre es möglich, diese Bastarde bis zum ausgewachsenen Tier zu züchten und eine nächste Generation zu ziehen, so würden auch da wieder ausschließlich Plutei mit mütterlichem Skelet entstehen. Ebenso liegen die Dinge bei *Strong* ♀ × *Arb* ♂. Hier wird, wie wir in hohem Grade wahrscheinlich machen konnten, in den typischen Fällen alles *Arb*-Chromatin eliminiert. Der Bastard enthält in seinem Organismus — von dem Spermaprotoplasma abgesehen — nichts als *Strong*-Bestandteile: *Strong*-Chromosomen und *Strong*-Plasma. Er ist also im Grunde von einem *Strong*-Keim, der parthenogenetisch zur Entwicklung gebracht wurde, nur wenig verschieden und würde in seinen weiteren Generationen nur *Strong*-Charaktere zeigen[1]).

In der Literatur werden »Bastarde, welche den Typus eines der beiden Eltern mit Ausschluß des entgegengesetzten führen« (DE VRIES, 1903, II. S. 20) und sich auch in den Nachkommen gleich bleiben, als einseitige

---

[1]) Zur gleichen Annahme gelangte auch schon GODLEWSKI (1906, S. 628) für die *Antedon*-Bastarde.

Bastarde (De Vries) oder falsche Bastarde (Millardet, 1894) bezeichnet. Man kann darnach auch unsre Bastarde mit mütterlichen Charakteren vorderhand falsche Bastarde nennen. Es erscheint mir jedoch ziemlich zweifelhaft, ob in beiden Fällen gleiche Ursachen das gleiche Endresultat hervorgebracht haben, denn es handelte sich bei De Vries wie bei Millardet um Bastarde nahe verwandter Species, wo Vorgänge, wie bei unsern Bastarden entfernter Verwandter, kaum wahrscheinlich sind. Möglich wäre eher ein Verhalten, wie wir es bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ gefunden haben, womit übereinstimmen würde, daß Millardet meistens mütterliche Hybride gezogen hat, «si fréquemment, qu'il est la règle chez les espèces des Fraisiers dont je parle» (l. c. S. 11). Obgleich wir lediglich bei Vermutungen bleiben müssen, kann ich es mir doch nicht versagen, einen Satz über das Zustandekommen dieser falschen Bastarde aus der Arbeit des französischen Autors zu zitieren. Es ist darin ein Gedanke ausgesprochen, der für unsre Bastarde völlig zutrifft: «Cela ne peut tenir qu'à ce fait que, par l'acte même de la fécondation, certaines parties importantes de la cellule male ou femelle ont été neutralisées, peut-être annihilées par la cellule adverse» (l. c. S. 22).

Anhang.

Über die Abhängigkeit der Vererbungsrichtung von äußeren Faktoren.

Vernon kam auf Grund seiner ausgedehnten Versuche (1898, 1900) zu dem Resultat, daß die Vererbungsrichtung der Bastarde von dem Grad der Reife abhängt und damit, da diese sich mit der Jahreszeit ändert, von den Jahreszeiten selbst. Diese Ansicht basiert auf Erfahrungen mit der Kombination *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂. "The characteristics of the hybrid offspring depend directly on the relation degrees of maturity of the sexual products" (1898, S. 521)[2]. "In December and January, all the hybrid larvae were of the paternal type" (Ebda.). Damit deckt sich allerdings das Ergebnis einer späteren Arbeit (1900) nicht genau. Ich selbst beobachtete an Serien, die im Dezember gezüchtet wurden, nur intermediäre Larven.

Wenn sich auch, was durch meine Versuche nicht entschieden wird, die Vernonsche Ansicht bei *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ bewahrheiten sollte,

---

[1]) Vgl. auch Doncaster (1903).

[2]) Vgl. jedoch dazu 1898, S. 484.

so ist es doch kaum wahrscheinlich, daß sich eine gleiche Abhängigkeit bei *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂ und *Strong* ♀ × *Arb* ♂ zeigen wird. Denn der mütterliche Charakter dieser zwei Kombinationen beruht darauf, daß im Pluteus kein oder nur wenig väterliches Chromatin vorhanden ist. Wenigstens darf dies, wie oben dargelegt, für die genannte *Sphaer*-Kombination als sicher, für die *Arb*-Kombination als sehr wahrscheinlich gelten. So sehen wir denn auch, daß die Vererbungsrichtung während des ganzen Winters dieselbe bleibt — immer mütterlich. Um dies zu zeigen, sind die Resultate sämtlicher Kulturen dieser Kombinationen in Tabellen (S. 614 und 615) zusammengestellt. Da nach VERNON (1898, S. 484) auch die Befruchtungsfähigkeit mit dem Grad der Reife und dadurch mit der Jahreszeit variiert, sind auch hierüber Angaben gemacht. Freilich ist dabei zu betonen, daß ich immer mit Wasser höheren Alkaligehalts gearbeitet habe. Immerhin kann man daraus auf die Befruchtungsfähigkeit in gewöhnlichem Seewasser einen ungefähren Schluß ziehen. Je höher der Prozentsatz befruchteter Eier und je geringer die zum Erfolg notwendige Konzentration des alkalischen Seewassers ist, desto leichter geht die Befruchtung auch in gewöhnlichem Seewasser. Eine Gesetzmäßigkeit im Sinne VERNONS läßt sich, glaube ich, an diesem Material nicht feststellen.

TENNENT (1910) hat die zwei Seeigelspecies *Toxopneustes variegatus* und *Hipponoë esculenta* in beiden Richtungen gekreuzt. Er verwendete dabei sowohl reines Seewasser, wie auch solches mit Alkali- oder Säurezusatz. Die beiden Species sind im Skelet ihrer Plutei den beiden Species *Strong* und *Sphaer* ähnlich. *Hipponoë* besitzt gegitterte Analstäbe und einen Scheitelrahmen; *Toxopneustes* einfache Analstäbe und knieartig gegeneinander gebogene, aber nur wenig verzweigte Scheitelstäbe. Der Autor fand bei den Plutei der Zuchten in gewöhnlichem und alkalisiertem Seewasser "preponderance of *Hipponoë* influence" (S. 6) und zwar bei den beiden möglichen Kombinationen. In angesäuertem Seewasser dagegen überwiegt in beiden Kombinationen der Einfluß von *Toxopneustes*.

Diese Ergebnisse berühren unsre Untersuchung insofern, als man denken könnte, das Resultat unsrer Experimente sei infolge der Kreuzbefruchtung in dem nach LOEB alkalisch gemachten Seewasser beeinflußt worden. Demgegenüber sei bemerkt, daß auch TENNENT bei erhöhtem Alkaligehalt keine wesentliche Abänderung der Vererbungsrichtung erzielte. Eine solche trat nur bei vermindertem Alkaligehalt, bei Säurezusatz ein. Ferner wurden die Keime bei unsrer Versuchsanordnung schon $^1/_4$ Std. nach Zusatz des Spermas wieder in reines Seewasser übertragen und lagen

Datum 1908/09.	Anzahl der befruchteten Eier	Konzentration der Lösung	Häufigkeit der Plutei	Skeletcharaktere	Befruchtung der Kontrollkultur	Bemerkungen
			Strong ♂ × *Sphaer* ♂			
19. XI.	etwa 30%	1,75	keine		alle befruchtet	—
17. XII.	wenige	2,5 NW. befruchtet 0[1])	keine		alle	25. XI. Eine Zucht angesetzt; ohne Erfolg
18. I.	einige	1,75 NW. 0	keine		alle	15. XII. 3 Zuchten angesetzt; fast ohne Erfolg
18. I.	zahlreiche	2,5 NW. 0	1 Pluteus	mütterlich	alle	16. I. Eine Zucht ohne Erfolg
8. II.	einige	2,0	keine		alle	23. I. do.
8. II.	einige	2,0	keine		alle	8. II. do. 2mal
8. II.	zahlreiche	2,0 NW. wenige befruchtet	keine		?	
11. III.	zahlreiche	2,0	zahlreiche	Unter 21 sind 18 mütterlich 3 aberrant	alle	11. III. 1 Zucht ohne Erfolg
23. III.	wenige	2,25	einige	von 2 Plutei 1 mütterlich 1 mütterlich, aber etwas aberrant	fast alle	23. III. 2 Zuchten ohne Erfolg
23. III.	wenige	2,25	einige	mütterlich	fast alle	

Strong ♀ × *Arb* ♂

20. XI.	einige 10 %	1,0—1,5	keine		fast alle	
1. XII.	wenige	2,0	keine		alle	
1. XII.	alle	2,0	keine		alle	
23. XII.	wenige	2,25 NW. 0	einige	mütterlich	alle	
19. III.	zahlreiche	2,25	keine	—	alle	19. III. 2 Zuchten ohne Erfolg
22. III.	zahlreiche	2,25	zahlreiche	mütterlich, mehrere aberrant	alle	22. III. 2 Zuchten ohne Erfolg
27. III.	mehrere	2,25	1 Pluteus	mütterlich, etwas aberrant	alle	25. III. 1 Zucht ohne Erfolg
27. III.	wenige	2,25	1 Pluteus	ganz aberrant	alle	31. III. do. 3 mal
31. III.	mehrere	2,25	keine	—	?	
31. III.	zahlreiche	2,25	zahlreiche	mütterlich	alle	
5. IV.	sehr wenige	2,25	1 Pluteus	mütterlich		3. IV. 4 Kulturen ohne Erfolg
5. IV.	zahlreiche	2,25	zahlreiche	mütterlich, einige aberrant	fast alle	
5. IV.	zahlreiche	2,25	keine		fast alle	
9. IV.	zahlreiche	2,25	keine			
9. IV.	zahlreiche	2,25	keine			
9. IV.	fast alle	2,25	keine			
9. IV.	zahlreiche	2,25	keine			

[1] NW = normales Seewasser.

auch vor der Befruchtung selten mehr als 1 Std. in der Loebschen Lösung. Tennent dagegen hielt die *Hipponoë*-Eier $2^1/_2$ Std., die *Toxopneustes*-Eier sogar 6 Std. im alkalisierten Seewasser und züchtete darin die Keime bis zum Blastulastadium. Endlich sei noch hinzugefügt, daß meine Resultate mit denjenigen Vernons, Drieschs und Fischels, welche mit gewöhnlichem Seewasser arbeiteten, gut übereinstimmten. Nach alledem ist wohl eine Beeinflussung der Skeletentwicklung im Sinne Tennents bei meinen Versuchen ausgeschlossen.

Es scheint mir hier die Gelegenheit, noch kurz auf einen Punkt einzugehen. Die Verschiebung der Vererbungsrichtung durch äußere Verhältnisse wie sie Vernon, Doncaster und Tennent annehmen, kann mit meinen Resultaten sehr wohl vereinbart werden. Es handelt sich bei diesen Autoren um Bastardkombinationen, bei denen die Chromosomen beider Eltern auf die Determinierung der Entwicklung Einfluß haben. Schon die Variabilität, welche bei solchen Bastarden zu finden ist, läßt vermuten, daß das gegenseitige Verhältnis dieses Einflusses schwankt — ich erinnere an die Kombinationen *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂ und *Sphaer* ♀ × *Ech* ♂. Da erscheint es mir sehr wohl möglich, daß auch die äußeren Verhältnisse eine Wirkung ausüben können. Es ist klar, daß damit gegen die Theorie nichts bewiesen ist, welche ausschließlich den Chromosomen eine vererbende Kraft zuerkennt.

Literatur.

Baltzer, F. 1908. Über mehrpolige Mitosen bei Seeigeleiern. Verh. med. phys. Ges. Würzburg. N. F. Bd. XXXIX.

—— 1909 *a*. Die Chromosomen von Strongylocentrotus lividus und Echinus microtuberculatus. Arch. f. Zellforsch. Bd. II.

—— 1909 *b*. Über die Entwicklung der Echiniden-Bastarde mit besondere Berücksichtigung der Chromatinverhältnisse. Zool. Anz. Bd. XXXV.

Boveri, M. 1903. Über Mitosen bei einseitiger Chromosomenbindung. Jen. Ztschr. f. Naturwiss. Bd. XXXVII.

Boveri, Th. 1888. Über partielle Befruchtung. Sitz.-Ber. Ges. Morph. u. Phys. München. Bd. IV.

—— 1889. Ein geschlechtlich erzeugter Organismus ohne mütterliche Eigenschaften. Sitz.-Ber. Ges. Morph. u. Phys. München. Bd. V.

—— 1895. Über das Verhalten der Centrosomen bei der Befruchtung des Seeigeleies. Verh. med. phys. Ges. Würzburg. Bd. XXIX.

—— 1896. Über die Befruchtungs- und Entwicklungsfähigkeit kernloser Seeigeleier und über die Möglichkeit ihrer Bastardierung. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. II.

—— 1901 *a*. Zellenstudien. Heft 4. Jena.

—— 1901 *b*. Merogonie (Y. Délage) und Ephebogenesis (B. Rawitz), neue Namen für eine alte Sache. Anat. Anz. Bd. XIX.

Boveri, Th. 1902. Über mehrpolige Mitosen als Mittel zur Analyse des Zellkerns. Verh. med. phys. Ges. Würzburg. Bd. XXXV.

—— 1903. Über den Einfluß der Samenzelle auf die Larvencharaktere der Echiniden. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XVI.

—— 1904 *a*. Ergebnisse über die Konstitution der chromatischen Substanz des Zellkerns. Jena.

—— 1904 *b*. Noch ein Wort über Seeigelbastarde. Arch. für Entw.-Mech. Bd. XVII.

—— 1905. Zellenstudien. Heft 5. Jena.

—— 1907. Zellenstudien. Heft 6. Jena.

Doncaster, L. 1903. Experiments in hybridization, with special reference to the effect of conditions on dominance. Phil. Trans. R. Soc. London. Ser. B. Vol. CXCVI.

Driesch, H. 1896. Die taktische Reizbarkeit der Mesenchymzellen von Echinus microtuberculatus. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. III.

—— 1898. Über rein-mütterliche Charaktere an Bastardlarven von Echiniden. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. VII.

Erdmann, Rh. 1909. Experimentelle Untersuchung der Massenverhältnisse von Plasma, Kern und Chromosomen in dem sich entwickelnden Seeigelei. Arch. f. Zellforschung. Bd. II.

Fischel, A. 1906. Über Bastardierungsversuche bei Echinodermen. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXII.

Godlewski, jun. E. 1906. Untersuchungen über die Bastardierung der Echiniden- und Crinoidenfamilie. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XX.

—— 1909. Das Vererbungsproblem im Lichte der Entwicklungsmechanik betrachtet. (Heft IX der Vorträge und Aufsätze über Entwicklungsmechanik der Organismen. Herausg. von W. Roux).

Hagedoorn, A. L. 1909. On the purely motherly character of the hybrids produced from the Eggs of Strongylocentrotus. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXVII.

Herbst, C. 1906 *a*. Vererbungsstudien II. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXI.

—— 1906 *b*. Vererbungsstudien IV. Ebda. Bd. XXII.

—— 1907. Vererbungsstudien V. Ebda. Bd. XXIV.

—— 1909. Vererbungsstudien VI. Ebda. Bd. XXVII.

Hertwig, O. u. R. 1886. Experimentelle Untersuchungen über die Bedingungen der Bastardbefruchtung. Jen. Ztschr. für Naturwiss. Bd. XXXVII.

Kupelwieser, H. 1909. Entwicklungserregung bei Seeigeleiern durch Molluskensperma. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXVII.

Loeb, J. 1904. Weitere Versuche über heterogene Hybridisation bei Echinodermen. Pflügers Archiv. Bd. CIV.

—— 1906. Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen. Leipzig.

—— 1908. Über die Natur der Bastardlarve zwischen dem Echinodermenei (Strongylocentrotus franciscanus) und Molluskensamen (Chlorostoma funebrale). Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXVI.

Meissner, M. 1904. Systematik der Echinodermen in Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreichs. II. Bd. 3. Abt. Echinodermen. (H. Ludwig und O. Hamann.)

Millardet, A. 1894. Note sur l'hybridation sans croisement ou fausse hybridation. Mém. Soc. Sc. phys. et nat. de Bordeaux. T. IV. (4. Sér.)

Morgan, T. H. 1894. Experimental studies on Echinoderm Eggs. Anat. Anz. Bd. IX.

Müller, J. 1852. 4. Abhandlung über Echinodermen: Fortsetzung der Untersuchungen über die Metamorphose der Echinodermen.
—— 1855. 7. Abhandlung über Echinodermen: Über die Gattungen der Seeigellarven.
Schmidt, H. 1904. Zur Kenntnis der Larvenentwicklung von Echinus microtuberculatus. Verh. phys. med. Ges. Würzburg. N. F. Bd. XXXVI.
Seeliger, O. 1893. Studien zur Entwicklungsgeschichte der Crinoiden. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. Bd. VI.
—— 1895. Gibt es geschlechtlich erzeugte Organismen ohne mütterliche Eigenschaften? Arch. f. Entw.-Mech. Bd. I.
—— 1896. Bemerkungen über Bastardlarven der Seeigel. Ebda. Bd. III.
Steinbrück, H. 1902. Über die Bastardbildung bei Strongylocentrotus lividus (♂) und Sphaerechinus granularis (♀). Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XIV.
Teichmann, E. 1903. Über Furchung befruchteter Seeigeleier ohne Beteiligung des Spermakerns. Jen. Ztschr. f. Naturwiss. Bd. XXXVII.
Tennent, D. H. 1907. The chromosomes in cross-fertilized Echinoid eggs. Biol. Bull. Vol. XV. Nr. 3.
—— 1910. The dominance of maternal or of paternal characters in Echinoderm hybrids. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XXIX.
Vernon, H. M. 1898. The relations between the hybrid and parent forms of Echinoid Larvae. Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B. Vol. CXC.
—— 1900. Cross fertilization among Echinoids. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. IX.
De Vries, H. 1903. Die Mutationstheorie. II. Band. Elementare Bastardlehre. Leipzig.
Wilson, E. B. 1901. Experimental Studies in cytology. I. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. XII.
Yatsu, N. 1904. On the use of "Sea lettuce" (Ulva) in orienting small objects for sectioning. Journ. appl. Micr. and lab. methods. Vol. VI.

Tafelerklärungen.

Tafel XXV.

Fig. 1. Bastardpluteus *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂, 6 Tage alt. Nach dem frischen[1]) Objekt gezeichnet. Vergr. 1/450.

Fig. 2 *a*. Kerne aus dem Scheitel eines *Sphaer*-Pluteus. Mit Pikrinessigsäure fixiert, mit Boraxkarmin gefärbt. Vergr. 1/2417.

Fig. 2 *b*. Kerne aus dem Scheitel eines Bastardpluteus *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂. Mit Osmiumsäure fixiert, mit Pikromagnesiumkarmin gefärbt. Vergr. 1/2417.

Fig. 3. Bastardpluteus *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂, 7 Tage alt. Sonst wie Fig. 1.

Fig. 4 *a*. Kerne aus dem Scheitel eines *Strong*-Pluteus. Fixiert und gefärbt wie 2 *b*. Vergr. 1/2417.

Fig. 4 *b*. Kerne aus dem Scheitel eines Bastardpluteus *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂. Sonst behandelt wie 4 *a*.

---

[1]) Die Larve wurde durch einen ganz geringen Formolzusatz unbeweglich gemacht.

Tafel XXVI.

Fig. 5 u. 6. Teilungsfiguren aus Bastardblastulis *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂, $20^1/_2$ Std. nach der Befruchtung in Pikrinessigsäure fixiert. Mit Eisenhämatoxylin nach Heidenhain gefärbt. Vergr. 1/2220.

Fig. 7. Schnitt durch eine Bastardblastula *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂, $22^1/_2$ Std. nach der Befruchtung fixiert (Pikrinessigsäure). Färbung wie bei Fig. 5 und 6. Vergr. 1/976.

Fig. 8. Wie Fig. 7, jedoch etwa 40 Std. nach der Befruchtung fixiert.

Fig. 9 *a*. Tetraster aus einem Bastard-Eifragment *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂. Fixiert und gefärbt wie Präparat von Fig. 5. Vergr. 1/3226.

Fig. 9 *b*. Dasselbe Objekt. Eliminierte Chromosomen nur in Umriß gezeichnet.

Chromosomenzahlen:	Pol *a*	7
	b	18
	c	10
	d	17
	Total	52

Fig. 10. Spermakernspindel aus einem kernlosen Bastard-Eifragment *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂. Fixiert und gefärbt mit Essigkarmin, 2 Std. 10 Min. nach der Befruchtung. Vergr. 1/1250.

Fig. 11. Ähnliches Objekt wie bei Fig. 10, fixiert mit Pikrinessigsäure, etwa $2^1/_2$ Std. nach der Befruchtung. Gefärbt nach Heidenhain. Vergr. 1/3226.

Tafel XXVII.

Fig. 12. Bastardpluteus *Strong* ♀ × *Arb* ♂ nach dem frischen Objekt gezeichnet. Vergr. 1/450.

Fig. 13. Skelet eines andern Bastardpluteus *Strong* ♀ × *Arb* ♂. Sonst wie Fig. 12.

Fig. 14 *a*. Kerne aus dem Scheitel eines *Strong*-Pluteus. Fixiert in Pikrin-Essigsäure, gefärbt mit Pikromagnesiumkarmin. Vergr. 1/2417.

Fig. 14 *b*. Kerne aus dem Scheitel eines Bastardpluteus *Strong* ♀ × *Arb* ♂, fixiert in Osmiumsäure. Färbung und Vergrößerung wie bei Fig. 14*a*.

Fig. 15 *a—d*. Kerne aus folgenden Plutei einer andern Versuchsreihe als bei Fig. 14. Fixierung in Pikrinessigsäure:

Fig. 15 *a*. *Strong*. Scheitel.

Fig. 15 *b*. *Strong*. Mesenchymzellen.

Fixierung in Osmiumsäure:

Fig. 15 *c*. *Strong* ♀ × *Arb* ♂. Scheitel.

Fig. 15 *d*. *Strong* ♀ × *Arb.* ♂. Mesenchymzellen.

Färbung überall mit Pikromagnesiumkarmin. Vergr. 1/2417.

Fig. 16. Bastardgastrula mit zahlreichen kranken Kernen. Etwa 30 Stunden nach der Befruchtung in Pikrinessigsäure fixiert. Färbung nach Heidenhain. Vergr. 1/875.

Fig. 17. Stück aus der Wandung einer erkrankten Bastardblastula *Strong* ♀ × *Arb* ♂. Alter, Fixierung und Färbung ungefähr wie bei Objekt von Fig. 16. Vergr. 1/2220.

Fig. 18. Wandungsstück einer Bastardblastula ähnlich wie Fig. 17. Angaben wie bei Fig. 17.

Fig. 19. Wandungsstück ähnlich Fig. 17. Färbung mit Boraxkarmin. Alles übrige wie bei Fig. 17.

Fig. 20. Einzelne Zellen aus dem Innern einer kranken Blastula. Angaben wie bei Fig. 18.

a. gefärbt mit Heidenhains Eisenhämatoxylin;
b. gefärbt mit Boraxkarmin.

Tafel XXVIII.

Färbung der Objekte von Fig. 21—28, 30 u. 31 mit Heidenhains Eisenhämatoxylin. Fixierung mit Pikrinessigsäure. Die Vergrößerung bei Fig. 21—26, 30 u. 31 beträgt 1 : 3226; bei den übrigen Figuren ist sie besonders vermerkt.

Fig. 21 *a* u. *b*. Chromosomen der ersten Furchungsspindel von *Sphaer.* Metaphase.

Chromosomenzahlen: Schnitt *a* 20 16
Schnitt *b* 20 23

Fig. 22. Chromosomen-Tochterplatte in Polansicht aus einem Zweizellen-Stadium von *Sphaer.*

Fig. 23. Bastard *Sphaer* ♀ × *Strong* ♂. Spindel eines Zweizellen-Stadiums in Metaphase. Zwei Schnitte. Chromosomenzahlen: *a* 13 22
b 25 16

Fig. 24 *a* u. *b*. Bastardkombination wie bei voriger Figur. Chromosomen-Tochterplatten einer Spindel aus einem Zweizellen-Stadium.

Chromosomenzahlen: *a* 38
b 38

Fig. 25 *a* u. *b*. Bastard *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂. I. Furchungsspindel in Metaphase. Zwei Schnitte. Chromosomenzahlen: *a* 10 11
b 12 10

Fig. 26. Folgestadium zu Fig. 25.

Fig. 27. Bastard *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂. Zweizellen-Stadium mit Äquatorialplatten; Vergr. 1/1700.

Fig. 28. Folgestadium zu Fig. 27 in gleicher Vergr.

Fig. 29. Bastard *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂. Vierzellen-Stadium. Fixiert und gefärbt mit Essigkarmin. Vergr. 1/638.

Fig. 30. Bastard *Strong* ♀ × *Sphaer* ♂. Chromosomen-Tochterplatte einer Spindel aus einem Zweizellen-Stadium. Chromosomenzahl: 22.

Fig. 31. Gleiche Kombination. Äquatorialplatte aus einer Blastulazelle, $10^1/_2$ Std. nach der Befruchtung fixiert. Chromosomenzahl: 24.

Tafel XXIX.

Färbung der Objekte der Fig. 32, 34—39 mit Heidenhains Eisenhämatoxylin, Fixierung mit Pikrinessigsäure. Vergrößerung 1/3226, bei Fig. 33 1/1072.

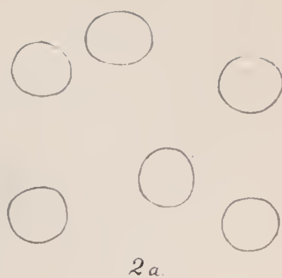
Fig. 32 *a* u. *b*. Bastard *Sphaer* ♀ × *Ech* ♂. I. Furchungsspindel. Metaphase.

Chromosomenzahlen: *a* (aus zwei Schnitten kombiniert) 22 22
b do. 16 16

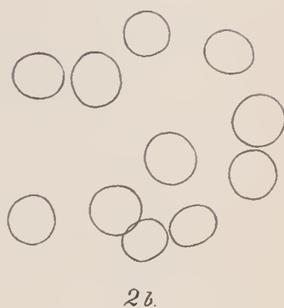
Fig. 33 *a*. Bastard *Ech* ♀ × *Sphaer* ♂. Spindel eines Zweizellen-Stadiums in Metaphase. Fixiert und gefärbt mit Essigkarmin. Vergr. 1/1072.



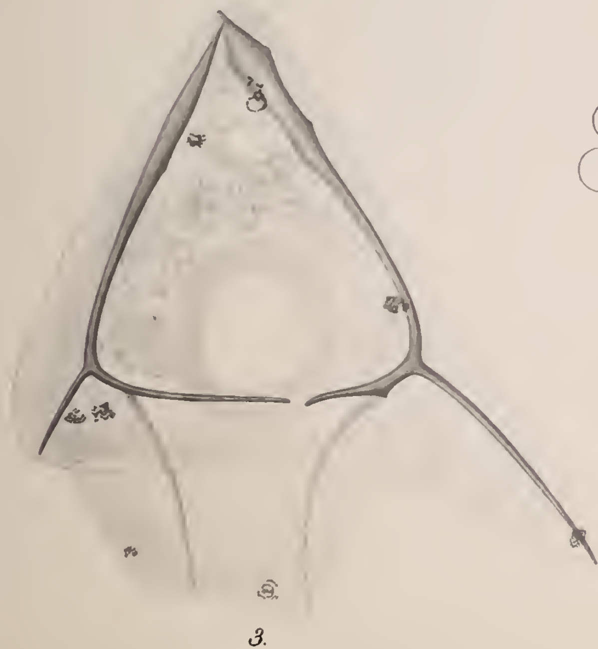
1.



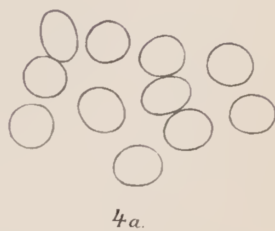
2 a.



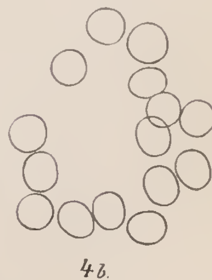
2 b.



3.

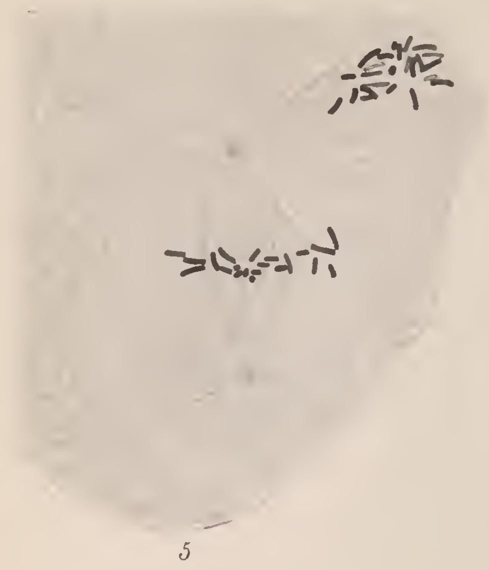


4 a.

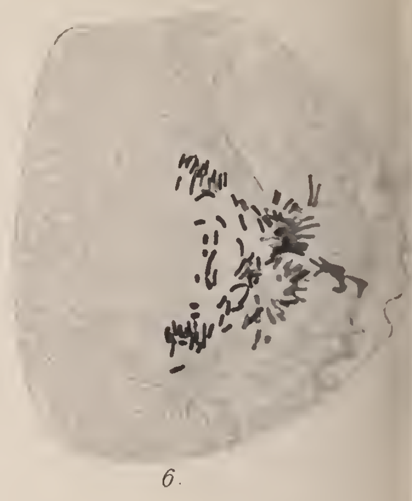


4 b.

Baltzer Verlag v. Wilhelm Engelmann, Leipzig Lichtdruck v. C. G. Röder, G. m. b. H., Leipzig.



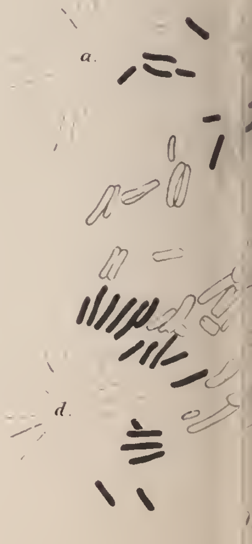
5

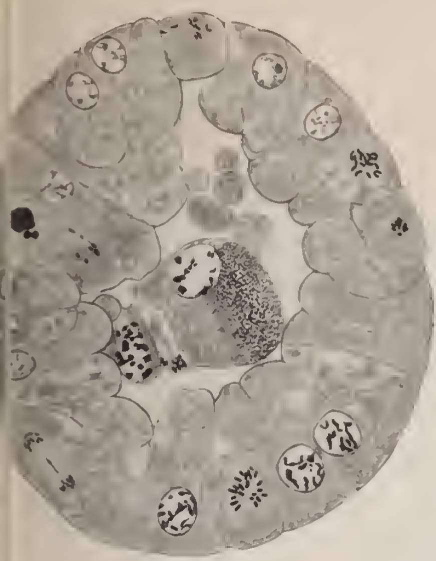


6.

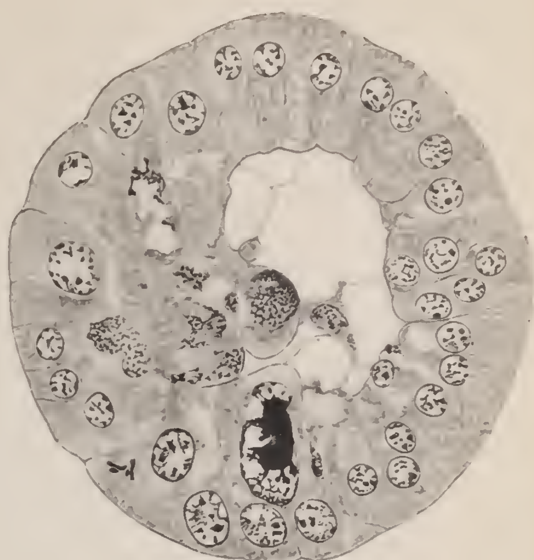


9a.

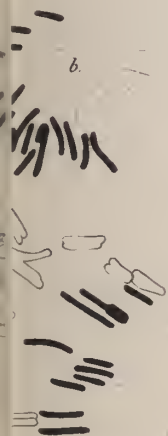




7.

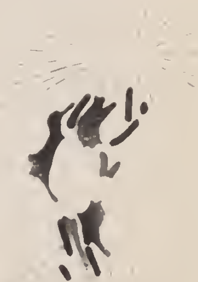


8





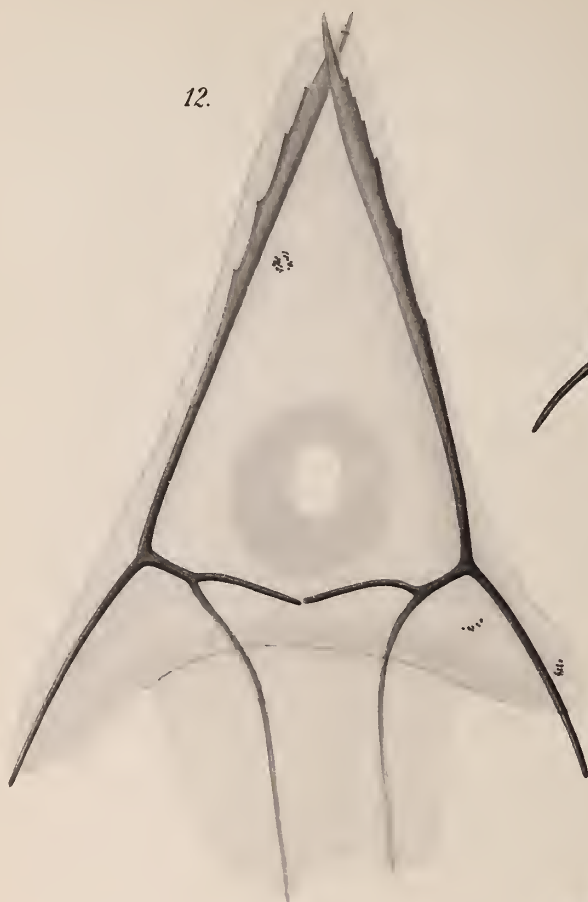
10.



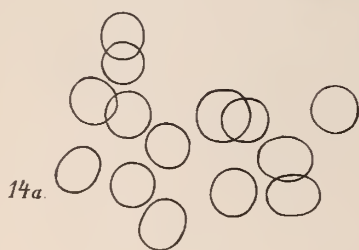
11

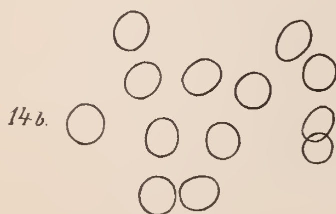
...nann, Leipzig.

Lichtdruck v. C. G. Röder, G.m.b.H., Leipzig.

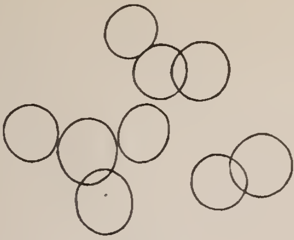

12.


13.

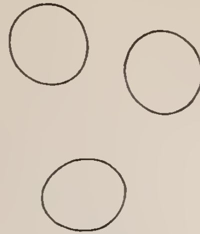

14a.


14b.

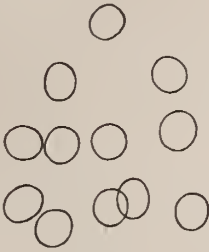

16.



15a.



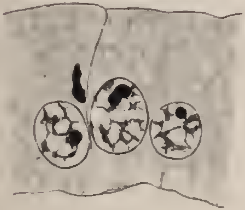
15c.



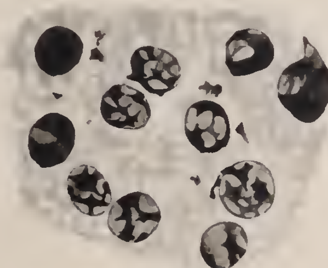
15b.



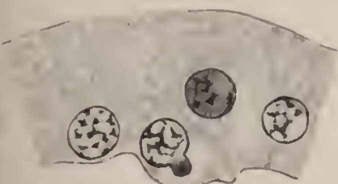
15d.



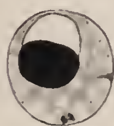
17.



18.



19.



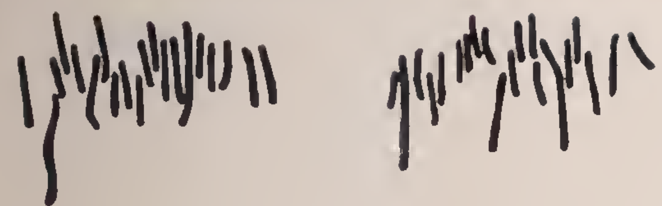
20a.



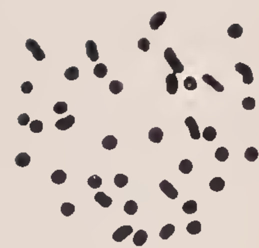
20b.

-zig.

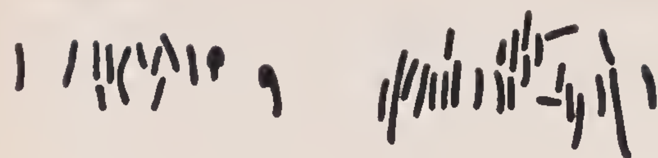
Lichtdruck v. C. G. Röder, G. m. b. H., Leipzig.



21a 21b



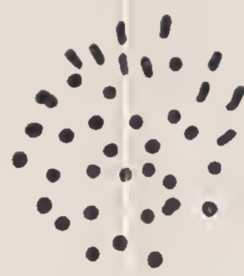
22



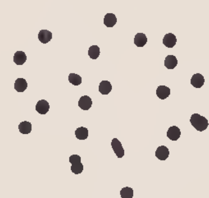
23a 23b



24a



24b



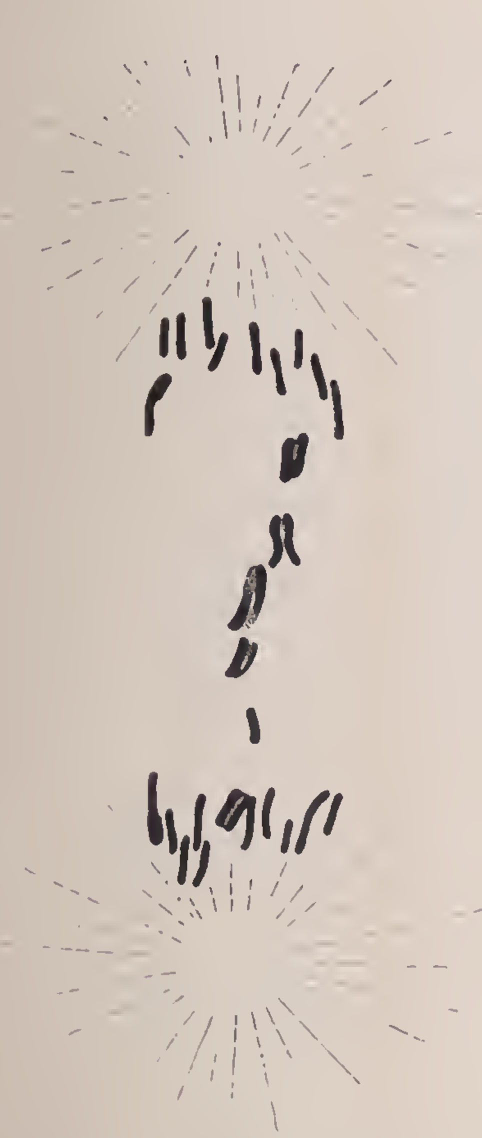
30



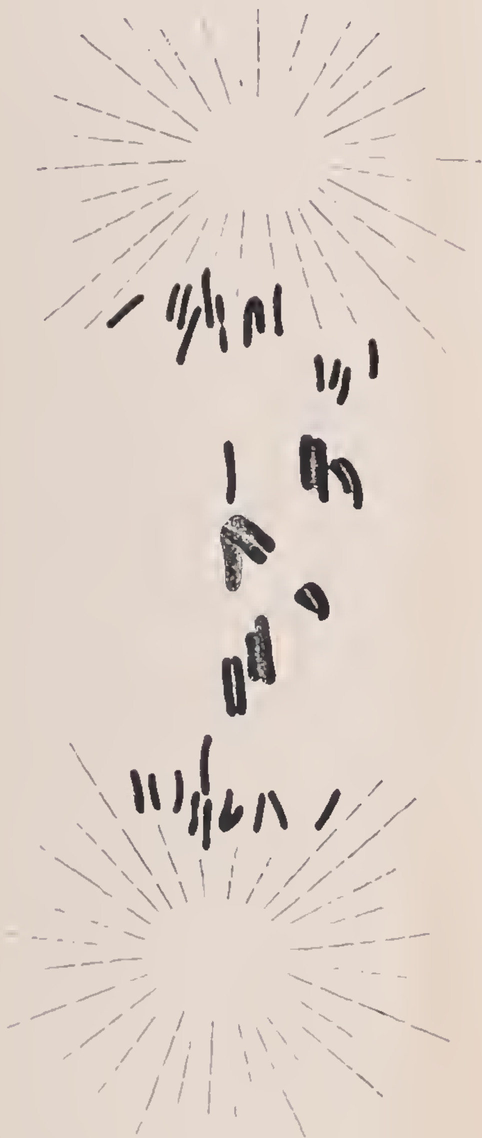
31



28



25a



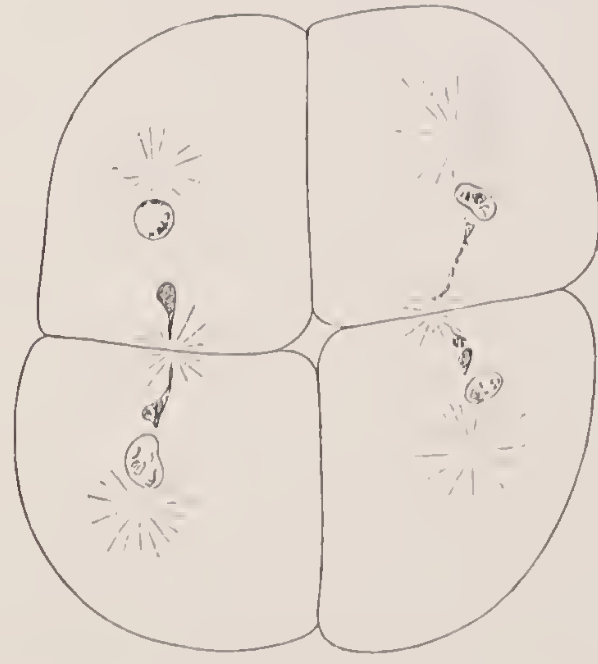
25b



26



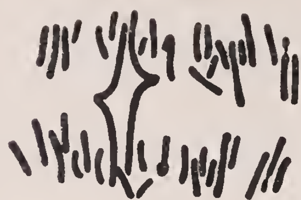
27



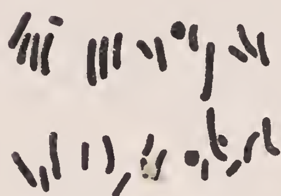
29

Baltzer.

Verlag von Wilhelm Engelmann in Leipzig.



32a



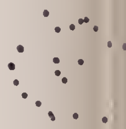
32b



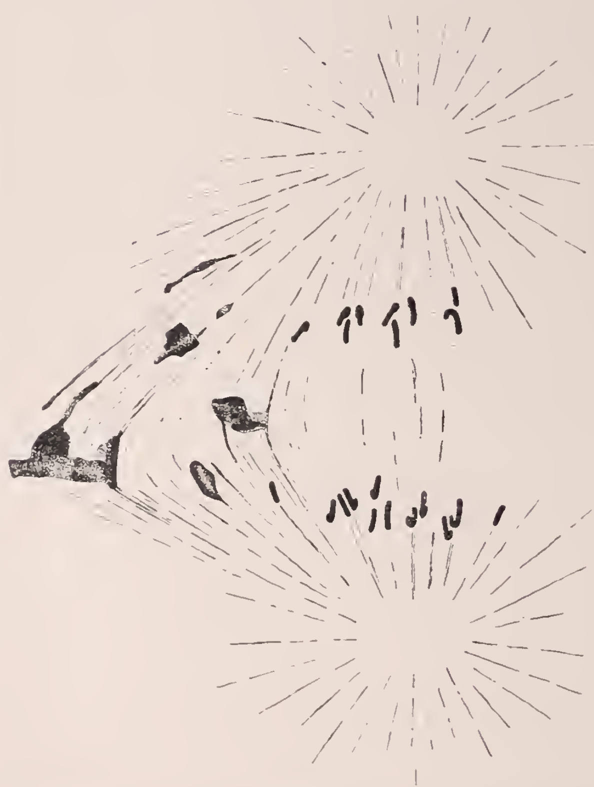
33a



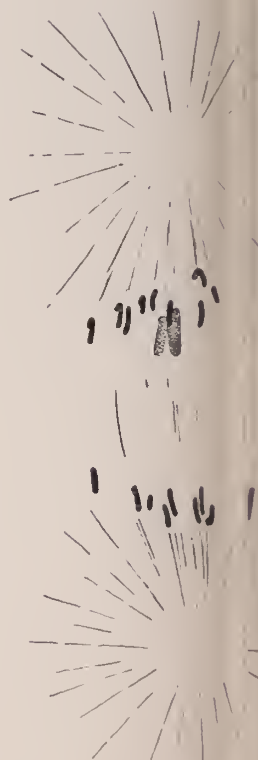
33b



33c



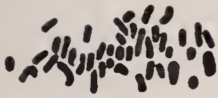
36a



36b

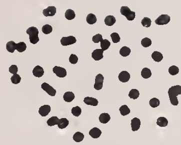
Baltzer.

Verlag von Wilhel E





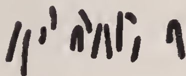
34

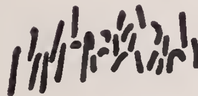


35a



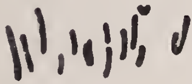
35b



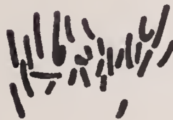




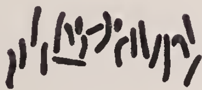
38

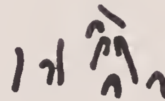


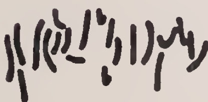
37a



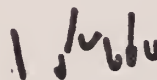
37b







39a



39b

…ann in Leipzig.

Fig. 33 *b* u. *c*. Chromosomenplatten der Spindel von Fig. 33 *a* in Polansicht. Gleiche Vergrößerung.

Fig. 34. *Arbacia*. I. Furchungsspindel in Metaphase. Aus drei Schnitten kombiniert. Chromosomenzahl in beiden Platten 40.

Fig. 35 *a* u. *b*. *Arbacia*. Vierzellen-Stadium. Chromosomenplatten einer Spindel in Polansicht. Chromosomenzahlen: *a* 40
b 41

Fig. 36 *a* u. *b*. Bastard *Arb* ♀ × *Sphaer* ♂. Spindel aus einem Zweizellen-Stadium. Zwei Schnitte.

Fig. 37 *a* u. *b*. Bastard *Strong* ♀ × *Arb* ♂. I. Furchungsspindel in Metaphase. Zwei Schnitte. Chromosomenzahlen: *a* 12 13
b 26 26

Fig. 38. Bastard *Arb* ♂ × *Strong* ♀. Chromosomen-Tochterplatte aus der Spindel einer jungen Morula, $5^1/_2$ Stunden nach der Befruchtung. Chromosomenzahl: 30.

Fig. 39 *a* u. *b*. Bastard *Strong* ♀ × *Antedon* ♂. Chromosomen der I. Furchungsspindel in Metaphase. Zwei Schnitte. Chromosomenzahl *a* 20 21
b 9 7.

Untersuchungen über die Entwicklung des Bananen-Pollens. I.

Von

G. Tischler.

Mit 4 Textfiguren und Tafel XXX—XXXI.

I. Einleitung.

In einer vor zwei Jahren erschienenen Arbeit (75) habe ich mit ausführlicher Begründung der Ansicht Ausdruck gegeben, daß die Sterilität der Hybriden keinen prinzipiellen Gegensatz zu einer solchen bei Nichthybriden zu bedeuten braucht, daß wenigstens, soweit morphologisch-cytologische Daten in Frage kommen, alle die von mir und andern gesehenen Unregelmäßigkeiten bei der Entwicklung der Sexualzellen auch durch andre Ursachen als das Nichtzusammenpassen der zwei in der Heterozygote vereinigten verschiedengeschlechtlichen Kernanteile hervorgerufen sein könnten. Einen die Bildung der Geschlechtsorgane wesentlich beeinflussenden Faktor sah schon Charles Darwin in der »Kultur« (11, 75, S. 141—144), die wir Menschen vielen Gewächsen angedeihen lassen. Wir sind noch weit entfernt davon, zu verstehen, warum manche Kulturgewächse völlig normalen Samen bilden, während andre ganz oder fast unfruchtbar sind.

Die Meinung etwa, daß bei solcher Sterilität eine Art von Kompensation eingetreten sei, derart, daß dann die vegetativen Organe nur unso besser »herausgezüchtet« seien, würde selbst, wenn sie stets richtig wäre, unser Problem noch nicht erklären. Denn das wäre ja eben die Frage, warum die einen Organe auf Kosten der andern verkümmern. In gewisser Beziehung könnte man fast an die alte Lehre vom »balancement organique« (Johannsen 28, S. 242 ff) in modernerem Gewande denken,

nämlich da, wo es sich dabei um sicher nachgewiesene physiologische Correlationen zwischen den einzelnen Organsystemen handelt. So sind die »*Calycanthema*«-Individuen bei CORRENS (9) Glockenblumen wohl unzweifelhaft deshalb steril, weil die Nährstoffe hier zur Bildung des petaloiden Kelches verbraucht werden und nicht in genügender Menge mehr zum Gynaeceum hinwandern können. Aber schon bei den *Calycanthema*-Individuen von *Mimulus* mit ihren oberständigen Fruchtknoten findet eine solche »Abdämmung« der Nährsubstanzen von den Samenanlagen offenbar nicht statt, denn die betreffenden Hybriden erwiesen sich als fertil. Und vielfach würde eine Lehre, die eventuelle Beziehungen zwischen besonderer vegetativer Üppigkeit und sexueller Schwächung aufzudecken sich bemühte, auch ganz versagen. Das fiel mir so recht auf, als ich in den Tropen überreichlich Gelegenheit hatte, kultivierte Bananen mit wildwachsenden zu vergleichen. Erstere sind absolut steril, letztere meist in hohem Grade fruchtbar, dabei aber häufig von ganz derselben vegetativen Üppigkeit wie jene. Die prächtigen Exemplare wenigstens, die ich im Urwalde des Salak oder Gedeh auf Java oder am Bomole in Usambara kennen lernte, hielten den Vergleich durchaus mit den angebauten *Musa*-Rassen aus. Und namentlich in Ostafrika war es mir beim ersten Blick kaum möglich, Eßbananen, die von »verlassenen Schamben« stammten, von wirklich wilden in ihrem vegetativen Aufbau zu unterscheiden.

Die Meinung, daß alle Kulturbananen ursprüngliche Bastarde seien, läßt sich allerdings weder widerlegen noch beweisen, da eine experimentelle Prüfung auf ihren Heterozygotismus bei fehlenden Nachkommen nicht vorgenommen werden kann. Aber wenn man bedenkt, daß wohl Jahrtausende schon von Völkern mit primitiver Kultur die Bananen wegen ihrer Früchte angebaut[1]) und kunstvolle Bastardexperimente dabei fast sicher ausgeschlossen waren, daß ferner auch die Annahme einer zufälligen Bastardisierung in freier Natur nichts für die Erklärung der Sterilität bei den Kulturformen bedeuten kann, da eine so durchgängige Verbreitung allein dieser spontan entstandenen Hybriden überaus unwahrscheinlich gewesen wäre, dann wird man mir wohl zugeben, daß wir mit Bastardeinflüssen bei *Musa* kaum zu rechnen brauchen.

Als zweites bliebe die Möglichkeit zu erwägen, ob bei den einzelnen Rassen von *Musa* die Sterilität infolge von Mutationen entstanden sei.

---

1) Siehe z. B. A. DE CANDOLLE (7, S. 381—390). »Alles weist auf ein außerordentlich hohes Kulturalter hin, somit auch auf ein ursprüngliches Vorkommen in Asien und auf eine mit jener der Menschenrassen gleichzeitige oder noch frühere Ausbreitung.«

Nachdem ich in meiner Arbeit 1908 (75, S. 136 ff) eine derartige Verknüpfung generell diskutiert hatte, hat vor allem Geerts (22, S. 185 ff.) dies Problem genauer erörtert. Er kommt nämlich bei seinen systematisch durchgeführten Untersuchungen in der Familie der Onagraceen zu dem Resultat, daß hier eine partielle Sterilität der Keimzellen für die meisten Arten charakteristisch, genotypisch bedingt sei. Man könne diese Erscheinung am besten mit der Tatsache vergleichen, daß fast durchgängig von den vier Tetradenabkömmlingen einer Embryosack-Mutterzelle drei steril blieben. In früheren, vielleicht schon lange Perioden zurückliegenden, Zeiten wäre hier wie dort »durch einen Mutationsvorgang« das Idioplasma in dieser Richtung verändert. Die Differenz gegenüber meinen Ausführungen läßt die Einführung von Mutationen noch weniger zur Erklärung geeignet erscheinen. Ich hatte das Auftreten der Sterilität in die Ontogenie eines bestimmten, chemisch und physikalisch noch analysierbaren Individuums gelegt, wie z. B. der pelorisch gewordenen Linarien. Hier wäre doch wenigstens zu erforschen möglich, ob etwa bestimmte Stoffe gegen die Regel sich nicht gebildet hätten, eine bestimmte Chromosomengruppierung in den Archesporzellen nicht realisierbar sei, oder ähnliches mehr. Verlegen wir aber die die Sterilität bedingende Mutation weit nach rückwärts in die Phylogenie der Individuen, wie Geerts das will, so wird eine mögliche Erklärung ganz illusorisch.

Bei unsern Bananen könnten wir, da hier durchgängig, und nicht nur bei einzelnen Individuen, Unfruchtbarkeit herrscht, bei Annahme von Mutationen, die für sie verantwortlich zu machen wären, solche nur in die Vergangenheit setzen. Mit andern Worten, wir hätten die Tatsache als »unerklärt« hinzunehmen. Und wenn wir trotzdem nicht darauf verzichten wollten, irgendeine unter Umständen aufklärbare Ursache der Sterilität zu statuieren, so bliebe eigentlich nur die Vorstellung übrig, daß in der Kultur die äußeren Bedingungen gegen die ursprünglichen so verändert wurden, daß es deswegen zu normaler Fruchtbildung nirgends mehr kommen konnte. Wenn Kulturpflanzen, wie die Bananen, besonders häufig dieses Schicksal erfahren haben, muß das daran liegen, daß man diese gerade am meisten von den für die Ausbildung sämtlicher Organe optimalen Bedingungen entfernt hat. Der Mensch braucht das nicht einmal immer »bewußt« getan zu haben. Ich erinnere da an die Geschichte des Kalmus, wie sie vor kurzem von Mücke (49)[1]) in höchst anziehender

[1]) Siehe dazu auch die Ausführungen von Ascherson (1, S. 5—7), der die Bekanntschaft des Kalmus als Droge im klassischen Altertum noch nicht für erwiesen erachtet.

Weise in großen Zügen klargelegt wurde. Hier sind bei dem Weiterwandern nach dem Norden die Pflanzen — wohl infolge der fehlenden Wärme — total steril geworden, ohne daß die vegetative Üppigkeit gelitten hätte, und Mücke hat uns ja auch den Grad der Verkümmerung der Sexualorgane entwicklungsgeschichtlich aufgedeckt. Daß *Acorus* ohne menschlichen Eingriff, *Musa* vielleicht mit Nachhilfe des Menschen so zur Sterilität gekommen ist, ist für uns ganz ohne Belang. Das »tertium comparationis« wäre eben das Verbrachtwerden unter ungünstige äußere Bedingungen.

Wie selbst für Hybriden solche äußeren Faktoren in hohem Maße in Betracht kommen können, habe ich für einen *Potentilla*-Bastard (75, S. 78ff.) experimentell zu zeigen gesucht und jüngst hat Wulff (81) noch entschiedener auch für die reinen Potentillen die hier so häufige Pollensterilität als ausschließlich durch äußere Verhältnisse bedingt erklärt. Dadurch, daß er Material von sehr verschiedenen Standorten untersuchte, sah er z. B., daß auch *Potentilla rubens* (= *P. opaca*) genau so stark wie *P. Tabernaemontani* (= *P. verna*), pollensteril sein kann[1]).

Bereits vor 14 Jahren hatte Bengt Lidforss (43) exakt zu zeigen begonnen, wie empfindlich gerade der Pollen für äußere Schädigungen sein kann, und so dürften denn wohl auch die Erscheinungen bei *Musa* unter die Rubrik der Beeinflussung durch äußere Agentien fallen. Experimentell könnte man diese Vermutung durch Versetzen gut fertiler wilder Species unter etwas abweichende Bedingungen beweisen. Bei meinem relativ kurzen Aufenthalt in den Tropen waren für mich solche Versuche natürlich ausgeschlossen. Ich kann nur eine Angabe aus der Literatur anführen, die zu zeigen scheint, daß wir mit unsrer Vermutung auf dem richtigen Wege sind.

In einer Arbeit aus dem Jahre 1886 berichtet P. Sagot (62), daß *Musa Fehi* in den Niederungen Tahitis sich genau wie alle Eßbananen verhielt, während aus größerer Meereshöhe geholte Früchte wenigstens schon harte schwarze Samen besaßen, wenn diese auch noch unvollkommen entwickelt waren; ja nach den Erzählungen der Eingeborenen sollen

[1]) Die von mir an das Verhalten meines Heidelberger Materials geknüpften Folgerungen betr. etwaige Unterschiede zwischen »mutierenden« pollensterilen und »nicht mutierenden« pollenfertilen Arten würden damit hinfällig werden. Gegen eine kausale Verknüpfung von Pollensterilität, Mutation und Apogamie haben sich zudem auch Hans Winkler (79, S. 427ff.), Rosenberg (60, S. 161) und Ostenfeld (53, S. 273 ff.) ausgesprochen.

Individuen, die 1000—1200 m über dem Meere wuchsen, selbst völlig fertil sein.

Diese Notiz über die wechselnde Fruchtbarkeit innerhalb einer Art ist die einzige, die ich in der Literatur fand. Auch SCHUMANN (64) weiß bei seiner zusammenfassenden Behandlung der Musaceen nichts Weiteres anzuführen. Wie jeder Bananenesser weiß, können sich gelegentlich auch in den Eßbananen harte schwarze Samen finden. Über den Grad ihrer Ausbildung, sowie ihr eventuelles Keimungsvermögen dürfte nichts bekannt sein. —

II. Beobachtungen an lebendem Material.

Dank der Tatsache, daß an einem *Musa*-Blütenstande gegen die Spitze hin die männlichen Blüten in der Achsel von Bracteen in großen Mengen produziert werden, waren die einzelnen Entwicklungsstadien leicht in der richtigen Reihenfolge zu studieren. Denn man brauchte nur so lange »Stichproben« zu machen, bis man an das gewünschte Stadium kam. Wenn die ältesten Blüten z. B. in ihren Staubblättern stäubenden Pollen zeigten, befand sich etwas weiter zurück der Pollen noch unreif, noch mehr nach der Spitze zu waren gerade die Pollenmutterzellen in Teilung, schließlich schickten sie sich zur Synapsis an oder waren in den verschiedenen präsynaptischen Stadien. Jedesmal lieferte mir ein einziger Blütenstand alles in überreicher Fülle. Und das hat den großen Vorteil, daß unsre Schilderungen sich sowohl jetzt als auch in den späteren Abhandlungen auf einzelne Individuen beziehen. Bei der ungeheuren Variabilität der Bananen wäre sonst ein Vermengen verschiedener uns vielleicht fast ununterscheidbarer Rassen kaum zu vermeiden gewesen.

Schon am lebenden Material hatte ich in Buitenzorg, Peradeniya und Amani Gelegenheit, mich zu überzeugen, daß die Pollenentwicklung bei den meisten Rassen von *Musa sapientum* überaus unregelmäßig verläuft, jedenfalls viel abnormer als bei sämtlichen der früher von mir studierten sterilen Bastarde (73, 74, 75)[1]: so sah ich »Tetraden« bis zu zehn Teilkörnern. Doch zeigten mir Keimversuche mit *Musa*-Pollen, daß selbst bei solchen Rassen, deren Tetradenbildung sehr irregulär ist, noch von einzelnen Körnern eine normale Schlauchbildung erzielt werden kann, also eine absolute Pollensterilität nicht vorzuliegen braucht. Ich

---

[1]) *Ribes Gordonianum*, *Bryonia alba* × *dioica*, *Mirabilis Jalapa* × *longiflora*, *M. Jalapa* × *tubiflora*, *Syringa chinensis*. Es sei mir erlaubt bei dieser Gelegenheit darauf hinzuweisen, daß die von mir wie von JUEL (30) als reiner Elter betrachtete *S. persica* von LEMOINE (41) auch für hybrid erklärt worden ist.

erwähne hier besonders die ostafrikanische Rasse »*Lualua*«[1]), bei der ich nach dem lebenden Material notierte: »viel abnorme Teilungen, starke Größenunterschiede der Körner nach der Tetradenteilung; trotzdem nimmt ein relativ großer Teil von ihnen an Größe zu und zeigt später viel Stärkeeinlagerungen«. In 10% Rohrzuckerlösung erhielt ich nach wenigen Stunden eine ganze Reihe prachtvoller Pollenschläuche, die den Durchmesser des Kornes an Länge bei weitem übertrafen (s. Textfig. 1). Bei den gleichfalls afrikanischen Rassen »Dole«[1]) und »Tebwa«[1]) fand ich bereits in den Antheren alle möglichen Keimungsstadien des Pollens. Leider habe ich keine Pollenkeimungsversuche bei Rassen von *Musa* mit hoher Chromosomenzahl angesetzt, da ich auf diese cytologischen Differenzen erst beim Studium der Mikrotompräparate aufmerksam wurde.

Textfig. 1.



Pollenschlauch, gewachsen in 10%iger Rohrzuckerlösung von *Musa sapientum* var. *Lualua*. Vergr. 120.

An lebendem Material sah ich auch, daß eine eventuelle Degeneration der Pollenkörner bei den einzelnen Rassen zu verschiedenen Zeiten einsetzt. Auf Java fiel mir eine sehr frühe Obliteration des Pollens bei der Rasse »Radjah Sereh« auf, in Ceylon bemerkte ich ähnliches bei der Rasse »Puwalu«.

Demgegenüber geht die Entwicklung des Pollens bei den fertilen *Musa*-Arten anscheinend völlig normal vor sich, ich kontrollierte dies lebend bei *Musa Holstii, ulugurensis* und *textilis* in Amani, bei *Musa coccinea* in Tjibodas auf Java und bei *Musa Bassjo*, die in unserm Heidelberger Kalthaus seit Jahren gezogen wird und hier normal blüht und fruchtet. Auch gewisse sterile Rassen von *Musa sapientum* dürften annähernd normale Pollen-Tetradenteilung haben. Wir werden weiter unten einen solchen Fall für die afrikanische Rasse »Dole« näher kennen lernen. Die Anordnung der Tetradenabkömmlinge ist allerdings eine überaus wechselnde und schien mir schon nach leben-

[1]) Wie mir Dr. Braun mitteilte, sind die Namen auf »Kishambala« ausgedrückt.

dem Material im wesentlichen durch die Form der Pollenmutterzelle bestimmt zu werden.

Von Beobachtungen, die ich sonst noch an der lebenden Pflanze machte, sei nur noch erwähnt, daß ich an einigen *Musa*-Rassen außerordentlich deutlich die Synapsis-Phase studieren konnte. Die Herren Dr. Mücke und Dr. Kränzlin, die damals gerade in Amani waren, bestätigten mir ausdrücklich die Realität dieses Stadiums und gestatteten mir, dies an dieser Stelle zum Ausdruck zu bringen.

Unsre vorliegende Arbeit soll nun die Pollenentwicklung von zwei javanischen und einer afrikanischen Rasse der Eßbanane »*Musa sapientum*« schildern. In einer folgenden Mitteilung hoffe ich auch über die sonstigen in den Tropen fixierten *Musa*-Rassen bzw. Species berichten zu können. Dann sollen auch erst in ausführlicherer Weise die Folgerungen diskutiert werden, die sich daraus ergeben, daß ich bei *Musa* Rassen aufdeckte, die sich durch verschiedene Chromosomenzahlen cytologisch voneinander unterscheiden.

III. Beobachtungen an fixiertem Material.

Eine genauere Untersuchung des *Musa*-Pollens ist, soweit mir bekannt ist, bisher noch nicht vorgenommen, ja von Scitamineen überhaupt dürfte nur die Gattung *Canna* cytologisch studiert sein. Wiegand (77) machte über die allotypen Teilungen von *Canna indica* bei der Tetradenteilung der Embryosack-Mutterzelle sehr eigentümliche Angaben. Er bestimmte die diploide Zahl der Chromosomen zu sechs und die gleiche sollte dann in der heterotypen Spindel zu konstatieren sein, während die haploide Zahl erst bei der homöotypen Teilung zutage träte. Max Körnicke (34, S. 119, 120) wies jedoch sowohl für Pollen- wie Embryosack-Mutterzellen nach, daß in der heterotypen Spindel in ganz normaler Weise sich acht Chromosomen zeigen[1]), daß diese sich darauf stark verkürzen, in der Äquatorialebene ihre beiden Hälften trennen und als je acht »Klümpchen« zu den Polen wandern. In der nächsten Mitose finden sich die gleichen acht verkürzten Chromosomen wieder ein. Die vegetativen Teilungen ergaben als unreduzierte Zahl sicher mehr als zehn, wenn auch genaue Zählungen sich nicht vornehmen ließen. Wenn Wiegand nur drei Chromosomen anstatt acht als Haploidzahl beschreibt, so hat er nach Körnicke es sicher mit unvollkommen fixierten, verklumpten Chromatinelementen zu tun gehabt.

---

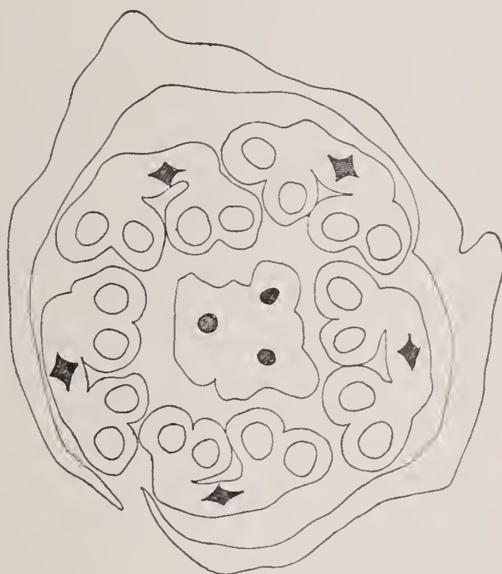
[1]) Siehe auch Strasburger (67, S. 7).

Somit wollen wir uns jetzt zu *Musa* wenden. Die Fixierung meiner Objekte geschah nach Carnoy und Flemming, und zwar erwies sich Carnoys Flüssigkeit geeigneter für die Stadien bis zur Diakinese, Flemmings mehr für die spätere Entwicklung, speziell für die fertigen Tetraden selbst, die in Carnoy merkwürdigerweise öfter stark geschrumpft waren. Tingiert habe ich fast ausschließlich, wie bei meinen früheren Pollenuntersuchungen (73, 74, 75) mit Hämatoxylin nach Heidenhain und nachgefärbt mit Säurefuchsin.

a) Var. »Kladi«.

Die erste von uns ausführlicher zu beschreibende Rasse ist die, welche ich unter dem Namen »Pisang Kladi« von dem in Buitenzorg wohlbekann-

Textfig. 2.



Querschnitt durch eine männliche Blütenknospe von *Musa sapientum* var. *Kladi*. Vergr. 4.

ten Pflanzensammler Paidan erhielt. Über die Anordnung des Archespors an der Innenseite der fünf Staubblätter gibt uns am besten Textfig. 2 Auskunft. Wir sehen hier auch die Stamina einen aus drei Teilen (mit je einem Gefäßbündel) zusammengesetzten Griffel umschließen. Dieser sitzt auf einem Fruchtknoten, der indes niemals mehr an seinen Placenten Samenanlagen hervorbringt.

In den allerjüngsten von mir gesehenen Stadien sind die Kerne, die künftig dem Archespor angehören werden, zwar schon ein wenig größer als die der umliegenden somatischen Zellen, zeigen aber noch genau die gleiche Struktur wie diese. Es fallen nämlich in allen Nuclei eine größere Menge sehr stark mit Hämatoxylin färbbarer Punkte auf, ganz denen gleichend, wie sie Rosenberg (57), Overton (54), Laibach (39) und andre für ihre »Prochromosomen« beschrieben haben. Leider ist ihre Zahl hier absolut nicht konstant. Deutliche Größenunterschiede innerhalb der einzelnen Kerne lassen dies von vornherein erwarten, und so waren denn auch da, wo sich größere, dickere Chromatinansammlungen zeigten, viel weniger als da, wo sich durchgängig kleinere vorfanden. Über die Chromosomenzahl konnte ich jedenfalls aus alledem nichts Sicheres entnehmen, ebenso erlaubten die zahlreichen Mitosen der somatischen Kerne mir genau so wenig wie Körnicke bei *Canna* eine exakte Zählung. Aus den weiter unten zu gebenden Daten werden wir ersehen, daß die haploide Zahl bei *Musa sapientum Kladi* 24 ist, die diploide demnach 48 sein muß. Soviel Körner sah ich nun niemals. Auffallend war indes, daß ich mehrfach Zahlen bekam, die um 24, also um die reduzierte Zahl schwankten, und auch dies nur da, wo die »Prochromosomen« unter sich ziemlich gleich waren. Sehr genaues Zusehen zeigte dann wohl öfters, daß jedes aus zwei Anteilen zusammengesetzt war, die dicht nebeneinander lagen. Wenn uns hier keine Zufälligkeiten täuschten, so würden wir vor der Tatsache stehen, daß die zuerst von Strasburger (68, S. 488ff.) nachgewiesene paarweise Lagerung der »homologen« Chromosomen in den somatischen Kernen bei *Musa* so weit gehen kann, daß unser Auge nicht mehr die Grenzen der beiden zu unterscheiden vermag. Und da, wo wir erheblich weniger »Centren« sehen, als sich erwarten läßt, müßten wir in jedem einen Komplex von Chromosomen erblicken, der sich ebensowenig in seine Einzelbestandteile zu sondern braucht, wie dies z. B. in den Prochromosomen des Ruhekerns oder während der Mitosen von *Wikstroemia* nötig ist (70, S. 53ff.).

Während in den somatischen Kernen der das Archespor umgebenden Zellen stets die Prochromosomen oder Komplexe von ihnen als stärker färbbare Punkte erhalten bleiben, wird es im sporogenen Gewebe selbst, sobald dieses seine definitive Zellenzahl erhalten hat, bald anders, wenigstens zeigte sich bei der von mir angewandten Färbetechnik nunmehr sogleich eine auffällige Differenz zwischen den beiden Gewebesystemen. Dies findet man z. B. bereits auf einem Stadium, in dem die Archesporkerne eine Größe wie in Fig. 1, Taf. XXX, haben, wo also die Nuclei noch weit von ihrer Maximalgröße entfernt sind. Jede Zelle ist zu dieser

Zeit polygonal abgeplattet, mit dichtem, feinkörnigem Plasma versehen und sie besitzt einen Kern, der außer einem großen Nucleolus nur ein wabiges Gerüst enthält, das ganz mit Chromatin durchtränkt erscheint. Irgendwelche als Prochromosomen zu deutende Gebilde fehlen und allein ganz schwache ebenso gut als »Knotenpunkte von Waben« aufzufassende Pünktchen verraten wohl noch, daß die Chromosomenindividualität auch unserm Auge nicht ganz unerkennbar geworden ist. Hätte ich dies Stadium als jüngstes in meinen Präparaten gehabt, so hätte ich kein Bedenken getragen, *Musa* an den von Rosenberg als »Fritillaria-Typus« (57, S. 254) benannten anzuschließen, zu dem ja besonders die Monokotylen gehören sollen.

Ganz das gleiche »Verschwinden« von vorher deutlichen Prochromosomen beschrieben jüngst Lagerberg (38, S. 21) für *Adoxa*[1]) und Davis (12, S. 553) für *Oenothera*[2]), und vielleicht werden auf diese Weise die von einigen Autoren noch gehegten Bedenken gegen die Prochromosomen überhaupt gehoben werden. Wir wollen hierauf in dem Abschnitte, in dem wir einige allgemeinere Fragen der bei der Meiosis aufzuwerfenden Probleme diskutieren, etwas eingehender zurückkommen.

Die Archesporkerne treten nun in ein stärkeres Wachstum ein, die chromatische Substanz vermehrt sich intensiv, doch braucht ihre wabige Anordnung zunächst nicht alteriert zu werden. Bald fängt dann allerdings ein Ausspinnen von Fäden an, das bei *Musa* gleich zu Anfang mit einer gewissen »Kontraktion« verbunden ist. In Fig. 2 sehen wir ein beginnendes Leptonema, und wir bemerken, da sämtliche Figuren unsrer Tafeln bei der nämlichen Vergrößerung gezeichnet wurden, wie stark die Nuclei inzwischen gewachsen sind. Die bei der Leptonemabildung sich dokumentierenden synaptischen Zusammenziehungen gehen ganz allmählich vor sich, wie es von so vielen Autoren, jüngst noch von Grégoire (23, S. 332ff.), ausdrücklich betont ist. In Fig. 3 haben wir dann eine weiter gegangene Synapsis, aber durchaus noch ein Leptonema. Ein Zusammenlegen mehrerer Fäden zu einer scheinbaren Einheit, wie es Fick, wenn auch selten (17, S. 606), beobachtete, ließ sich auch bei *Musa* ziemlich leicht konstruieren, aber wie Rosenberg, der bei *Drosera* dasselbe sah (61, S. 23), möchte auch ich solche »Verklebungs-«Bilder nur

---

[1]) »Wenn man aber bei dieser Pflanze in den präsynaptischen Stadien der Archesporzellkerne nach in dieser Weise geformten Chromatineinheiten sucht, so lassen sich solche nicht beobachten«.

[2]) Bei dem Herausdifferenzieren des chromatischen Netzwerks . . . "the chromatic bodies decrease in size, apparently contributing their substance to the reticulum and finally they can no longer be differentiated".

auf die Fixierung zurückführen. Ich gebe damit zu, daß die hierbei benutzten Flüssigkeiten einen gewissen Einfluß auf das Aussehen der mikroskopischen Bilder gewinnen können — dafür sprechen auch die geringen Verschiedenheiten, die bei Carnoy- und Flemming-Fixierung sich zeigen —, aber ich bin überzeugt, daß die Synapsis als solche natürlich ist. Grégoire hat ja auch hier alles »Für und Wider« so sorgfältig abgewogen, daß ich die lange Literatur nicht noch einmal zu zitieren brauche[1]). In *Musa* haben wir nun, wie bereits oben erwähnt, ein Beispiel für eine Pflanze, bei der sich die Synapsis auch in lebendem Zustande außerordentlich scharf beobachten läßt. Grégoire führt S. 332 an, daß bereits eine Reihe andrer Autoren (Sargant, Berghs, Overton, Vejdovsky, Wilson, Oettinger) gleiche Angaben machen. Wenn Rosenberg (61, S. 22) meint, daß es »nicht ausgeschlossen sei«, daß die Beobachtungsflüssigkeit auch da »störend auf die Kerne eingewirkt haben kann«, so meine ich jedoch, daß hier die Skepsis gegen tatsächlich Beobachtetes etwas zu weit getrieben erscheint. Ganz abgesehen davon, daß, wie Grégoire ausführt, Fixierungsmittel, die kontrahierend, und solche, die verquellend wirken, im wesentlichen gleiche Ballungen zeigen, dürfte auch die Tatsache für die Natürlichkeit unsrer Figuren (z. B. 4, 5) sprechen, daß bei *Musa* zuweilen eine deutliche synaptische Kontraktion bereits vorhanden sein kann, wenn die Kontinuität des Wabenwerks noch gewahrt blieb: die Waben waren nur weniger dicht geworden. Auch ist die Lokalisation des synaptischen Knäuels ganz beliebig in den Kernen und nicht etwa überall nach der gleichen Seite gerichtet. Halten wir also daran fest, daß bei dem Beginn der Kontraktion (und es gibt bei *Musa* sicher nur diese eine!) die Fäden durchaus leptoten sind, daß aber nach einer gewissen Zeit ein Pachynema an ihre Stelle getreten ist (Fig. 5). Wie ist das vor sich gegangen? Ist hier auch ein Aneinanderlegen der Fadensysteme zu beobachten, das so oft beschrieben und so verschieden gedeutet wurde? Trotz vielen Suchens ist es mir nicht möglich gewesen, die Zygotenie bei *Musa* aufzudecken. Möglich, ja wahrscheinlich, daß die Färbung meiner Präparate gerade hierfür nicht differenziert genug war. Aber wenigstens den Weg, den die die Zahlenreduktion anbahnende Verschmelzung der Chromatineinheiten gegangen ist, glaube ich in Fig. 4 angedeutet zu sehen. Mit andern Worten, ich glaube nicht an die Fusion ganzer Spireme, sondern nur an eine solche der »Prochromosomen«. Sehr starke Entfärbung in schwefelsaurem Eisenoxydammon zeigte mir nämlich genau wie seiner Zeit Miyake (48, S. 88), daß diese

[1]) S. auch die Zusammenfassung bei Matschek (47, S. 95—97).

scheinbar verschwundenen Gebilde ihre Sonderheit trotz allem bewahrt haben müssen. Denn die dunkler färbbaren Körper, welche innerhalb des Fadenwerks liegen, können kaum etwas andres vorstellen. »Knotenpunkte« von Wabenwänden oder Stellen, an denen mehrere Fadenschlingen sich kreuzen, sind sie jedenfalls sicher nicht. Über diesen Punkt glaube ich durch besonders genaues Zusehen mir völlige Klarheit verschafft zu haben. Einige Male meine ich nun ein paarweises Nebeneinanderlagern und eine eventuelle Verschmelzung zweier in meinen Präparaten aufgedeckt zu haben. Ich möchte damit an die wohl zuerst von STRASBURGER (67, S. 18) gegebene Deutung auch meine Beobachtungen anknüpfen. LAGERBERG (38, S. 23)[1], der bei *Adoxa* auch in ungefähr gleichem Stadium wieder die vorher verschwundenen Centren sah, hat die Ansicht ausgesprochen, daß die Prochromosomen richtend auf die Fadenschlingen einwirken könnten. Dies scheint bei *Musa* in ziemlich kurzer Zeit geschehen zu sein, denn bald darauf zeigt sich uns ein typisches Pachynema, in dem die Fusion jedenfalls bereits vor sich gegangen ist. Irgendwelchen Längsspalt kann man vorläufig nicht darin sehen, weiter unten sei auch diese schwierige Frage diskutiert.

Inzwischen sind die Archesporzellen ein wenig gewachsen und es treten kleine Intercellularräume zwischen ihnen auf. Im allgemeinen kann man sagen, daß dem Stadium des Leptonema ein lückenloses Gewebe im Archespor entspricht, wogegen ungefähr zu Beginn der Pachynema-Phase Zwischenräume sich bilden. So hatte ich von vornherein ein ziemlich gutes Kriterium, welcher Altersstufe die Kerne jedesmal angehörten. Jedenfalls ist dies sicherer, als wenn man nur nach der Größe der Kerne gehen wollte. Denn die Veränderungen, die sich in den Nuclei abspielen, erfolgen durchaus nicht ganz genau parallel mit ihrer

[1] Über die Identität der sich jetzt markierenden »Gamosomen« mit den vorher vorhandenen »Prochromosomens« pricht LAGERBERG sich noch mit ziemlicher Vorsicht aus: S. 23 ». . . Indessen muß ich gestehen, daß, obgleich ich davon völlig überzeugt bin, daß man in diesem Falle mit besonderen Gebilden zu rechnen hat, die Ähnlichkeit zwischen diesen und den von vegetativen Kernen hier oben erwähnten Prochromosomen nicht besonders auffällt. Der Anlaß zu ihrer Entstehung ist ja auch in diesem Fall ein andrer, und vielleicht ist dies die Ursache, daß sie in verschiedenartiger Weise zum Vorschein kommen. Jedenfalls scheint mir die Möglichkeit nicht ausgeschlossen zu sein, daß es Körper von andrer Bedeutung sein könnten. Mit etwas größerer Sicherheit würde man wohl ihre eventuelle Identität behaupten können, wenn es sich feststellen ließe, in welcher Anzahl diese Körper in den präsynaptischen Kernen auftreten. Eine solche Angabe kann ich aber jetzt ebensowenig wie zuvor machen, und eine exakte Zählung dürfte in Kernen dieses Typus immer auf besondere Schwierigkeiten stoßen«.

Vergrößerung, so daß man etwa die chromatische Anordnung als Funktion der Kerngröße betrachten könnte. Stets bleiben vielmehr einzelne Kerne gegen die Norm im Wachstum zurück und aus Messungen allein könnte man nicht ersehen, daß z. B. Fig. 6 ein späteres Stadium als Fig. 2, 4, 5 repräsentiert. Dazu kommt noch, daß bei Betrachtung der Schnitte von 5 μ Dicke ein Kern meist auf mindestens zwei Schnitte verteilt ist und daher nicht in jedem seinen Maximaldurchmesser zeigen kann. Das Pachynema liegt zunächst durchaus in synaptischer Kontraktion (Fig. 5) gegen das eine Ende des Kernes, unabhängig von dem erhalten gebliebenen großen Nucleolus. Es fiel mir indes auf diesem Stadium stets noch die Ausscheidung einer Anzahl kleinerer Nucleolen auf (Fig. 5 *n*), die neben den chromatinhaltigen Schlingen des Pachynema gelagert waren und die sich vorher nicht fanden. Man könnte sie als Indizien für stärkere Stoffwechselvorgänge nehmen, die zu dieser Zeit sich innerhalb des Kernes abgespielt und sie als »Excretstoffe« ausgeschieden hätten. Der Faden sah häufig eingekerbt aus, ohne daß ich präzisieren könnte, ob hier die Grenzen der Chromosomen angedeutet seien, etwa in der Weise, daß jedes Glied einem in die Länge gezogenen »Zygosom« entspräche. Die Einkerbungen verschwinden völlig während der Auflockerungsphase des Spirems (Fig. 6), das nun erst die Doppelnatur des Pachynema, d. h. die Umwandlung in ein Strepsinema, erkennen läßt. Der endgültige Zerfall in die Chromosomenpaare der Diakinese scheint allmählich vor sich zu gehen. Fig. 7 weist uns einen angeschnittenen Nucleus auf, bei dem erst vier Paare (*a*—*d*) deutlicher von den andern abgesondert sind.

Das sind die wenigen Daten, die ich über die Prophasen dieser *Musa*-Rasse geben kann, wenn ich nur das bringe und in Zeichnungen niederlege, was für mich absolut feststeht. Gerade über die »interessanten« und kritischen Punkte, d. h. über die Bildung der pachytenen Schlingen und ihre eventuelle Teilung, wage ich zunächst noch kein definitives Urteil. Eine Durchsicht des Grégoireschen (23) Buches, das uns zeigt, wie ungefähr alle nur denkmöglichen Modifikationen bei einem wahrscheinlich überall im wesentlichen gleichen Verlauf beschrieben sind, warnt denn doch zur Vorsicht. Absolut überzeugend sind meine Präparate bisher bei *Musa* für eine bestimmte Deutung nicht.

Der Kern, der sich zur heterotypen Teilung anschickt, braucht nicht immer in der Mitte der Zelle zu liegen. Die Textfig. 3 *a* und *b* lassen erkennen, wie die Reduktionsspindel nach einem Ende der langgestreckten Zelle verschoben sein kann. Die Reduktion der Chromosomen verläuft insofern typisch, als wohl ausnahmslos die Paarlinge der bivalenten »Gemini« in der Äquatorialebene voneinander getrennt werden, um zu

den beiden verschiedenen Polen hinzuwandern. Eine **sehr** starke Verkürzung der Chromosomen bis zum Aussehen von »Doppelklümpchen« wie bei *Canna* (Körnicke, 34) ist seit den letzten Stadien des Spirems vor sich gegangen. Es sieht, wenn wir allein die Masse der mit »Chromatinfarbstoffen« sich färbenden Substanzen jetzt und vorher vergleichen, so aus, als ob eine absolute Abnahme des Chromatins, ebenso wie zu Beginn der Prophasen eine Zunahme, zu konstatieren sein muß. Aber solche Betrachtungen verlieren vorläufig noch jeden festen Boden, wenn wir bedenken, daß Němec (51) chemische Verschiedenheiten zwischen dem Chromatin der ruhenden und dem der in Teilung begriffenen Kerne nachwies. Also, was sich vorher mit Hämatoxylin dunkel gefärbt hat, ist gar nicht mehr identisch mit der Substanz, die sich jetzt so tingiert! Wir haben wohl die hauptsächlichen chemischen Umsetzungen ungefähr in die Phase zu verlegen, in der das Leptonema sich in der Zelle zu formen beginnt, aber manche Anzeichen sprechen dafür, daß es damit nicht sein Bewenden hat. Bleiben tut, **trotz** des starken Metabolismus, eben nur die Kontinuität der Chromosomen-Individuen.

Bei der heterotypen Spindel war es mir nun auch endlich möglich, genau die Zahl der Chromosomen zu bestimmen und dazu in einer Phase, die nicht immer dafür besonders günstig ist. Es hängt dies mit der Tatsache zusammen, daß die von den Spindelfasern eingeschlossene Figur nach der Metakinese stark tonnenförmig anschwillt. Dadurch, sowie durch ihre meist ungleich schnellen Wanderungen vom Äquator zu den Polen, lassen die Chromosomen sich fast sämtlich isoliert betrachten. Fig. 8 (in vier aufeinander folgenden Schnitten *a*, *b*, *c*, *d*) wird dies besser demonstrieren als viele Worte. Jedes der Chromosomen sehen wir hier bereits deutlich für die homöotype Teilung längsgespalten, dabei nicht alle von gleicher Größe. Einzelne, wie Chr. 5 oder 12, erschienen besonders klein, fast strichförmig, aber innerhalb der verschiedenen Teilungsfiguren konnte ich leider noch keine Konstanz entdecken und so mag der Zufall bei der Abbildung der Größenverhältnisse eine Rolle spielen. Indes müssen wir diese Indizien für morphologische Ungleichwertigkeit der Chromosomen im Auge behalten. Zählen wir nun die Chromosomen der vier Schnitte zusammen, so haben wir: 0 + 8; 12 + 5; 7 + 8; 5 + 3. Das ist aber 24 + 24. Und diese selbe Zahl, die mir hier mit absoluter Deutlichkeit entgegentrat, zählte ich des weiteren bei Fig. 9 *a* und *b*, wo ich von den Polen her auf eine Äquatorialplatte hinschaute. Die zwei aufeinander folgenden Schnitte ergaben beide 12, somit zusammen 24. Diesen beiden, meines Erachtens völlig klaren Bildern kann ich noch einige anreihen, wo ich ungefähr 24 zählte. Niemals indes

sah ich mehr als diese Zahl und die paar fehlenden können leicht durch Verkleben von zwei zu einem erklärt werden.

Charakteristisch für *Musa sapientum Kladi* ist nun, daß die Spindel sehr ausgesprochen multipolar sein kann und daß nicht selten die Spindelfasern fast sämtlich in der Mitte wie »geknickt« erscheinen (Fig. 10, 11). Die Chromosomen werden mit sehr ungleicher Schnelligkeit zu den Polen geführt, und selbst, wenn einige ungefähr gleichzeitig wandern, verhindert die Multipolarität, die inzwischen nicht etwa einer Bipolarität gewichen ist, den Aufbau der Dyadenkerne in gewohnter Weise. Das Resultat ist die Bildung von vielen »Sonderkernen«. Und Fig. 12 wie 13 dokumentieren äußerst deutlich, wie auch die schließliche Nähe der Kleinkerne untereinander nicht einen Zusammenschluß aller zu einem Nucleus mehr gestattet. Es müssen eben doch irgendwelche Bedingungen in der Zelle vorhanden gewesen sein, die eine sofortige Alveolisierung der Chromosomen und ihre Abrundung verlangten. — Neben diesen vom Mitoseschema abweichenden Fällen sind nun immer eine große Zahl völlig regulärer heterotyper Teilungen zu beobachten, so daß irgendwelche für *Musa Kladi* notwendige Zellbesonderheiten den einzeln herausgegriffenen abnorm verlaufenden Mitosen nicht zugrunde liegen dürften. Repulsionen der Chromosomen, wie man sie z. B. aus Fig. 12 oder 13 erschließen könnte, sind wohl nur dadurch bedingt, daß sich inzwischen die Oberflächenschicht des sich zu einem Sonderkern umwandelnden Chromosoms irgendwie physikalisch verändert haben muß, etwa so, wie es Küster (37) unlängst für ganze Protoplasten beschrieb. Diese Ansicht wird umso wahrscheinlicher, seit Lepeschkin (42) zeigte, wie leicht die Beschaffenheit der Plasmamembranen durch äußere Agentien beeinflußt werden kann.

Rein durch zufällige physikalische Zellbeschaffenheit dürfte auch die Erscheinung erklärbar sein, daß mehrfach von den Polen noch seitliche Strahlungen auftraten, die ziemlich weit hinter die Spindelfigur gehen konnten, und zuweilen den Bildern glichen, die wir von den Strahlungssonnen der tierischen Zelle mit ihren Centrosomen her kennen. Für die Existenz solcher »richtenden Organe« in der *Musa*-Zelle möchte ich sie somit keinesfalls verwertet wissen, um so mehr, als auch sonst nur gelegentlich andre Autoren, wie z. B. Juel bei seinem *Hemerocallis*-Pollen (29, Taf. VI—VIII) ähnliches abbildeten. Auch wenn wir selbst an die Strahlungssysteme denken, die Norén (52, S. 32) in den Archegonien von *Juniperus* beschrieb, und die mir ohne augenfällige Bedeutung für das Zelleben zu sein scheinen, werden wir unsren Strahlen um die Pole der Spindel herum keine sonderliche Wichtigkeit beimessen. Kristine Bonnevie (4) wies zudem unlängst darauf hin, daß derartige Strah-

lungen ihrer Natur nach von den Zugfasern der Spindel trotz ähnlichen Aussehens different sind[1]).

Die Mehrzahl der Monokotylen läßt auf die heterotype Teilung gleich die erste Wandbildung folgen, die die beiden Dyadenkerne in getrennte Zellen verweist. *Musa* macht von dieser Regel keine Ausnahme und, wo die Wandbildung gegen die Norm unterbleibt, werden die beiden Dyadocyten doch wenigstens durch Plasmamembranen voneinander abgegrenzt. Das gilt nun auch häufig da, wo einige überzählige Kerne bei der ersten Teilung sich bildeten, und es geschieht dies durchaus bei der Mehrzahl aller von mir gesehenen Mitosen. Dabei tritt auch ohne genaue Messungen schon zutage, daß im allgemeinen dem größeren Kern eine größere Plasmaportion zukommt, beide somit in gegenseitiger Größenbeziehung stehen müssen. Es unterliegt keinem Zweifel, daß die von Hofmeister bereits 1848 geargwöhnte, von Sachs, Strasburger u. a. dann weiter verfolgte, von Boveri und Gerassimoff schließlich bewiesene Kernplasmarelation im großen und ganzen für den *Musa*-Pollen zu Recht besteht.

Meist finden wir in derselben Anthere, die uns Bilder von der heterotypen Phase zeigt, auch sofort alle Stadien der homöotypen. In Fig. 14 sehen wir eine (angeschnittene) Spindel, die eine besonders eigenartig gedrehte Form aufweist und nach der einen Seite hin die Fasern in der Mitte weit auseinander spreizen läßt. Zwei Chromosomen liegen von dem Gros der übrigen weit gesondert. Die Bildung von Kleinkernen durch ungleich schnelle Wanderung zu den Polen finden wir hier genau so wie bei der ersten Teilung, wenn auch anscheinend etwas seltener.

Isodiametrische Zellen und solche, die in einer Richtung besonders langgestreckt sind, verhalten sich bei der Tetradenteilung verschieden, was die Anlage der Zellwände anlangt. In ersteren haben die Tetradenabkömmlinge die für die Pollenmutterzellen gewohnte Anordnung, während letztere durchweg eine Orientierung in einer Reihe erkennen lassen, wie wir es von den Embryosack-Mutterzellen her kennen. Bei *Musa* liegen die Beziehungen zwischen Zellform und Lage der Zellwände besonders klar zutage. In unsrer Textfig. 3 *c*—*i* finden wir einige der verschiedenen Bilder, die sich bei den Tetradenteilungen ergeben und die sich beliebig vermehren ließen.

---

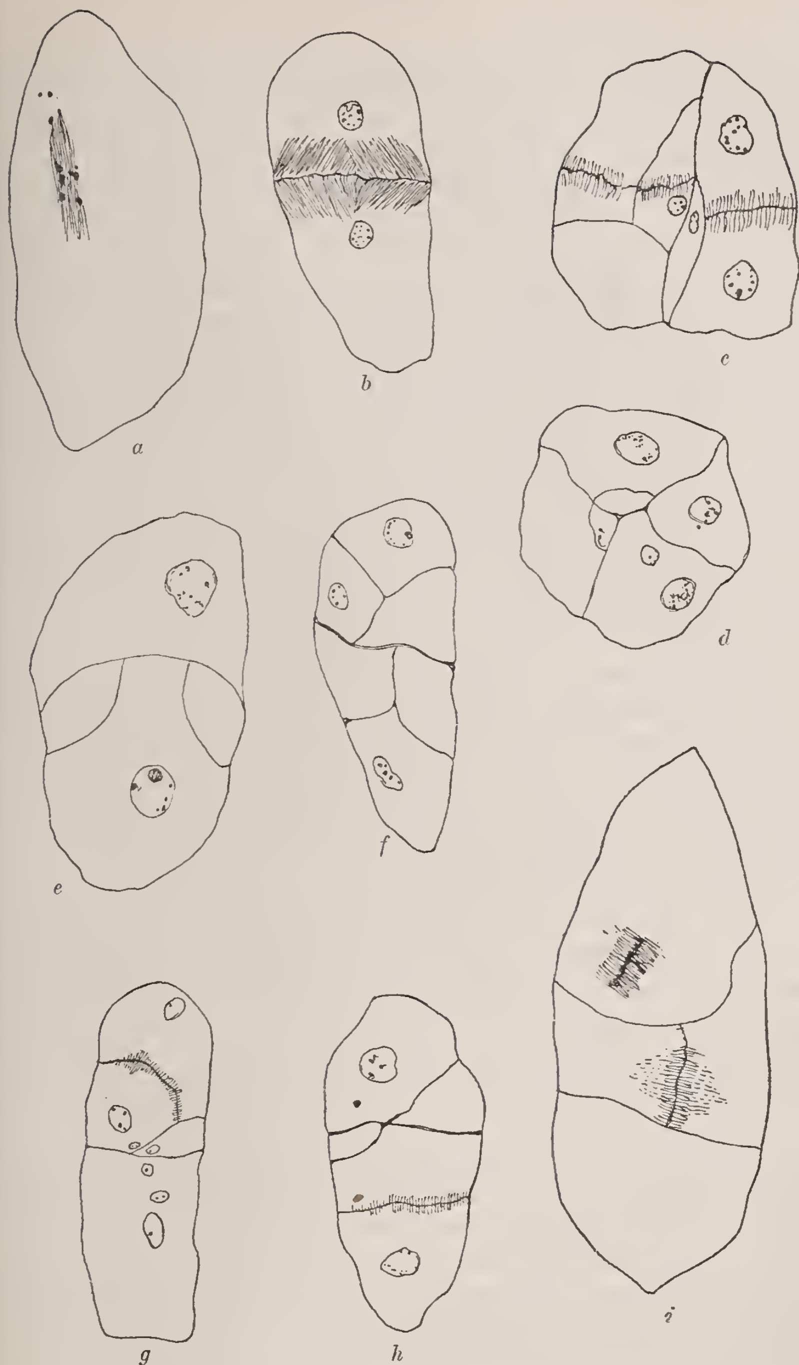
[1]) S. 31: »Während die letzteren als mehr oder weniger feste Verbindungen zwischen Centren und Chromosomen aufgefaßt werden müssen, sind die . . . ersteren Strahlungsgruppen nur als die sichtbaren Ausdrücke der durch die Centrenwirksamkeit hervorgerufenen Strömungen im Cytoplasma zu betrachten.«

Auffallend ist zunächst, wie ungleich groß die Tetraden in ihrer Gesamtheit geworden sind; einige haben mehr als die doppelte Größe der andern erhalten. Die Archesporzellen ließen solche Größenunterschiede nicht erkennen, und so muß wohl die gegenseitige Beeinflussung während ihres Wachstums dafür verantwortlich sein, indem einige besser als andre ernährt werden[1]. Die Chromosomenzahlen, addiert aus der Summe der Kerne der jedesmaligen »Tetrade«, müssen ja identisch sein. So lehrt uns dies Verhalten instruktiv, daß für Messungen, welche die Kernplasmarelation zu erweisen oder zu widerlegen hätten, niemals Kerne und Zellen verschiedener Tetraden promiscue verwandt werden dürfen. In Textfig. 3 *c* und *d* haben wir außer den kreuzförmig angeordneten vier »Tetraden«-Hauptzellen noch überall kleine Nebenzellen abgeschnürt. Bei *c* speziell sieht es so aus, als ob die Anlage der normal nach der zweiten Teilung auftretenden Wände durch die Existenz von Sonderkernen und -Zellen von der ersten Teilung gar nicht alteriert worden ist. In 3 *d* finden wir auch, daß zwischen einem Kleinkern und dem »zugehörigen« Tetraden-Großkern sich keine Zellwand angelegt hat.

Die Fig. *e—i* zeigen mehr oder weniger Reihen, wie sie uns von den Teilungen der Embryosack-Mutterzellen her geläufig sind. Solche Bilder hat man ja noch besonders herangezogen, um zu beweisen, wie wenig die für gewöhnlich auftretenden Verschiedenheiten bei den Pollen- und Embryosack-Mutterzellen in ihrem Wesen verschieden sind (s. z. B. Coulter und Chamberlain 10, S. 121ff.; Körnicke, 33). In Fig. *e* ist die eine Dyadenzelle deutlich in die andre vorgewölbt, wie wir dies von der zum Embryosack sich entwickelnden untersten Zelle der Tetradenreihe her kennen. Im übrigen verweise ich einfach auf unsre Figuren: man sieht, daß die Größen der Zellen und Kerne sehr wechselnde sind. Überall brauchen sich dabei besondere Plasmapartien um letztere gar nicht einmal abzugrenzen, siehe vor allem Fig. *g*; noch schöner haben wir es in Fig. 15, Taf. XXX, wo wir zwei große Dyadenkerne und zwei Gruppen zu je zwei kleinen, bei der heterotypen Spindel wohl versprengten Kleinkernen haben. In Fig. 16 ist eine derartige Symmetrie nicht mehr nachweisbar: hier hatten sich wenigstens vier ungefähr gleichgroße Plasmapartien abzuscheiden begonnen. Bis zu einer wirklichen Wandbildung war es aber nicht mehr gekommen, die Verbindungsfasern vielmehr waren

[1]) Interessante Hinweise auf die gegenseitige Beeinflussung der Sporenmutterzellen wie ihrer Tetradenabkömmlinge finden wir in Shattucks (65) Arbeit, der mit *Marsilia* experimentierte.

Textfig. 3.



a und *b* Pollenmntterzellen während der ersten Teilnng, *c* bis *i* Pollen»tetraden« bei *Musa* var. *Kladi* (Erklärung s. im Texte), gezeichnet ans Antherenlängsschnitten. Vergr. 470.

schon vorher geschwunden. Es ist in derartigen Fällen nachträglich nicht mehr möglich, den Verlauf der Mitose oder Mitosen zu schildern. Schließlich bleiben es ja nur »Curiosa«, da eine Beziehung zwischen diesen sonderbaren Bildern und bestimmten äußeren oder inneren die jeweiligen Abnormitäten bewirkenden Faktoren nicht zu erschließen ist. Als letzte Absonderlichkeit sei noch Fig. 17 erwähnt. Hier sieht es so aus, als ob die Reste der Spindelfasern von der heterotypen Hauptspindel noch geblieben sind, sich aber zwischen einzelnen versprengten Kernen wieder neue strahlenförmige Verbindungsfasern ausgebildet haben, die die Kammerung der Pollenmutterzellen fortsetzen helfen. Das wäre ja nun zunächst das Übliche und seit Strasburgers (66) *Hemerocallis*-Arbeit (1882) zu Erwartende. Das Merkwürdige ist, daß diese neuen Fasern direkt das andre System kreuzen, ja sich offenbar auf Kosten dieses entwickelt haben. Welcherlei revolutionäre »Zugwirkungen« es vermochten, diese Unordnung in der Zelle hervorzurufen, bleibt genau so unaufgeklärt wie die Frage nach den Ursachen der Strahlenbildung überhaupt. Vermuten können wir nur, daß die Kleinkerne selbst irgendwie die Veranlassung für die Strahlen geworden sind.

Nebeneinander in derselben Anthere haben wir normale Tetraden mit vier Abkömmlingen, solche mit überzähligen Zellen, die bis zu zehn im ganzen führen können (ein typisches derartiges Bild gibt uns Taf. XXXI, Fig. 18), solche, deren Dyaden sich nicht weiter geteilt und solche, bei denen zwischen den gesonderten Kernen sich überhaupt keine Zwischenwände mehr angelegt haben. Jedes Präparat bietet hier eine förmliche Musterkarte von Unregelmäßigkeiten.

Nur wenige Worte seien dem definitiven Schicksal der Pollenkörner nach ihrer Loslösung aus dem Tetradenverbande gewidmet. Es wird nach dem Gesagten nicht verwunderlich erscheinen, wenn schließlich überhaupt nur ein kleiner Prozentsatz leben bleibt, sich mit Plasma und Reservestoffen anfüllt und seinen Kern noch in die Mitose treten läßt, die den generativen vom vegetativen Pollenkern scheidet. Diese wenigen Körner sehen also äußerlich ganz intakt aus und können, wie wir für eine andre Rasse untersuchten, vielleicht selbst noch auskeimen. Bei den übrigen treten Degenerationserscheinungen auf, ganz denen gleichend, die wir für hybride Pflanzen näher ausgeführt haben (73, 74, 75). Hier müssen offenbar die zum Wachsen nötigen Substanzen nicht mehr assimiliert werden können. Die Tapetenzellen dürften kaum dafür verantwortlich zu machen sein, da diese völlig gesund ausschauen. Ihr Schicksal interessiert uns hier weiter nicht.

b) Var. »Dole«.

Hatten wir es bei Var. »*Kladi*« mit einer Rasse zu tun gehabt, die eine für *Musa* ziemlich hohe Chromosomenzahl aufweist, so wollen wir uns umgekehrt jetzt zu einer Rasse wenden, deren Chromosomenzahl besonders niedrig ist, nämlich zu der Var. »*Dole*« (Kishambala), die ich in Amani einlegte.

Die in meinen Präparaten gesehenen jüngsten Stadien waren etwas älter als die bei *Kladi*; die Archesporkerne waren bereits deutlich verschieden von den umgebenden somatischen und zeigten das feinwabige Netzwerk, in dem besondere »Prochromosomen« nicht mehr hervortraten. Dagegen waren für diese die somatischen Zellen hier von sehr hohem Interesse. Ich sah in ihren Kernen nämlich außerordentlich häufig die färbbaren Centren in ganz bestimmter Zahl und da sie sehr viel weniger betrugen als bei *Kladi*, ließen sie sich bequem zählen. Dabei stellte sich heraus, daß sie recht häufig gerade acht betragen, das ist aber die reduzierte Chromosomenzahl. Meist, aber durchaus nicht immer, war eine Zusammensetzung aus zwei Bestandteilen bei scharfem Zusehen aufzudecken. Vor allem erschienen mir diejenigen Kerne instruktiv, die zweierlei Größensorten von Chromatincentren besaßen: die größeren waren dabei doppelt so groß als die kleineren. Und wenn ich weiter hier z. B. vier große und acht kleine oder sechs große und vier kleine ganz deutlich ohne den geringsten Zweifel zählte, so kann das kein Zufall sein. Wenn wir die »großen« jetzt und vorhin immer aus zwei sehr dicht nebeneinanderliegenden Punkten zusammengesetzt denken, erhalten wir immer die Zahl 16 als die diploide.

Mehr als 16 habe ich nun nie gezählt, dagegen öfters noch weniger als acht. Es müssen dann eben noch mehr von den Einzelchromosomen mit andern zu einer scheinbaren Einheit zusammengetreten sein. In Summa spricht *Musa* var. *Dole* viel entschiedener noch als *Musa* var. *Kladi* für die Übereinstimmung der färbbaren Centren im ruhenden Kern mit Chromosomen.

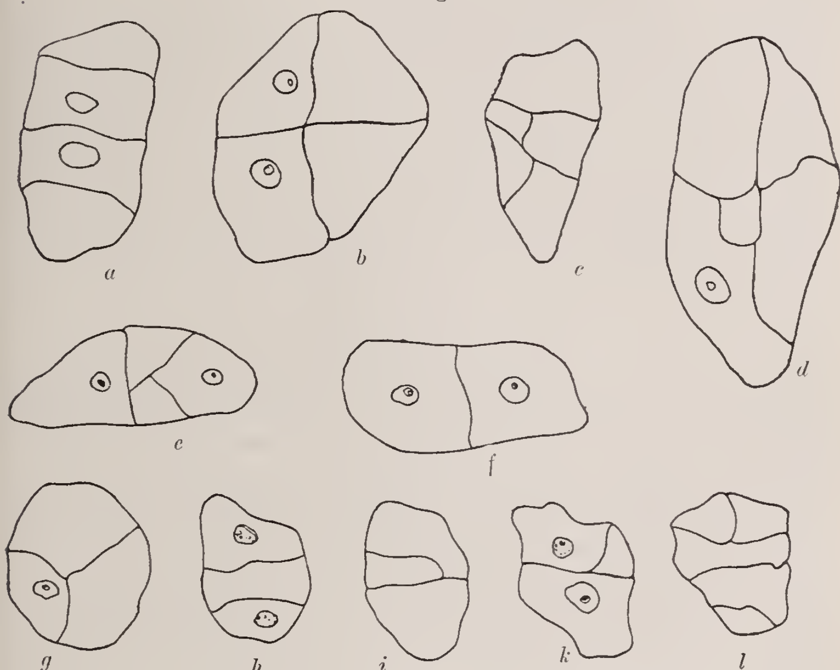
Die Entwicklung der Pollenmutterzellkerne bis zur heterotypen Spindel dürfte bei Var. *Dole* ebenso wie bei *Kladi* erfolgen. In Fig. 19 haben wir ein beginnendes Leptonema, wobei zu beachten ist, daß trotz der eintretenden synaptischen Kontraktion die Wabenanordnung im übrigen Teil des Kernes an sich noch nicht gestört ist, nur sind die Waben wieder lockerer geworden. Von Interesse ist auch noch ein Vergleich von Fig. 19 mit Fig. 2, die ein ähnliches Leptonemastadium bei *Kladi* repräsentiert: die sehr starken Größenunterschiede springen in die Augen.

Während der Synapsis bildet sich wieder ein Pachynema (Fig. 20) und auch hier konnte ich vielfach die Doppelnatur des Fadens nicht sehen. Schließlich tritt eine »Längsspaltung« auf, das Spirem zerfällt in die reduzierte Zahl von Chromosomen, die in die Diakinese eintreten. Hier war es mir zum ersten Mal möglich, ihre Zahl zu bestimmen, und zwar betrug sie acht. In Fig. 21 und 22 haben wir zwei im Wachstum etwas zurückgebliebene Kerne, jedesmal bei Berücksichtigung von zwei aufeinanderfolgenden Schnitten. In Fig. 21 haben wir 5 + 3, in Fig. 22 7 + 1 Chromosomenpaare (Chr. 7 lag etwas höher als 1—6): die Paarlinge befanden sich dabei überall in wechselnder Lage zueinander. Störend bei der Zählung waren kleinere chromatische Körner, die namentlich an der Peripherie des Kernes lagen — keinesfalls mit Prochromosomen identifizierbar, die auf diesem Stadium nie mehr sich markierten — und wohl nur stärker gefärbte Granula des Netzwerks darstellten. Die Chromosomenpaare zeigten im Unterschied von diesen alle deutlich ihren Geminicharakter und waren zudem auch sämtlich stabförmig gestreckt.

Die heterotype Spindel formt sich wie bei *Kladi*. Aber in ihrem Verlauf machen sich nun sehr starke Unterschiede gegenüber dieser Rasse geltend. Denn die so großen Unregelmäßigkeiten, die dort das Charakteristikum bildeten, fallen hier fast ganz fort. Die Fig. 23—26 geben uns den Beweis dafür. Da die Spindeln hier viel kleiner sind als bei *Kladi* (man vergleiche etwa die bei derselben Vergrößerung gezeichnete Fig. 8 *a—d*), konnte ich in günstigen Fällen durch Einstellen in die verschiedenen optischen Ebenen eines einzigen Schnittes sämtliche Chromosomen nebeneinander haben und zählen. Ich vermochte sie wieder auf acht zu determinieren. Allerdings war mit der definitiven Konstatierung meist viel Mühe und sehr genaues Zusehen verbunden, da sich die Chromosomen ziemlich leicht miteinander verklebten. So sah ich zwar niemals mehr als acht, häufiger jedoch nur sechs oder sieben. Einmal kann das Messer hieran Schuld sein, und dies ist wohl sicher der Fall bei der im übrigen besonders klaren Anaphase der heterotypen Spindel, die uns in Fig. 26 vorliegt, bei der nach dem einen Pole nur sieben, nach dem andern gar nur sechs zu wandern scheinen. Ich habe aber die Figur deshalb besonders aufgenommen, weil sie die Längsspaltung für die homöotype Teilung schön dokumentiert. Dann aber ist die »Verklumpung« der Chromosomen manchmal so stark, daß eine niedrigere Chromosomenzahl als acht dadurch vorgetäuscht werden kann. Erinnern wir uns nur daran, daß Wiegand (77) bei der mit der gleichen Zahl ausgestatteten *Canna* gar nur drei Chromosomen zu zählen glaubte! Querschnitte durch die heterotype Spindel, die oft besonders klare Zählungen

erlaubten, gaben mir für *Musa* gar kein brauchbares Resultat, weil das Zusammenkleben immer ein zu großes war[1]). — Da das Wandern der Chromosómen nach den Polen im großen und ganzen sehr gleichmäßig erfolgt, bilden sich meist auch keine überzähligen Kerne bei »*Dole*« aus. Die Zahl der Dyaden ist mithin wirklich zwei, die der Tetraden wirklich vier. Hier und da kommen natürlich doch auch Sonderkerne vor, so in

Textfig. 4.



Pollen»tetraden« bei *Musa* var. *Dole* (Erklärnng s. im Text), *a—f* gezeichnet aus Antherenlängsschnitten, *g—l* aus Antherenquerschnitten. Vergr. 470.

Fig. 27. In der Interkinese des größeren, anscheinend vollständig gebildeten, Kernes bemerkt man wieder die acht Chromosomen.

---

[1]) Die Schwierigkeiten bei der Zählung waren für mich noch dadurch vermehrt, daß zufällig bei meinen Präparaten sämtlich die Hämatoxylinfärbung so differenziert war, daß auch zahlreiche Grana oder Reihen von ihnen im Cytoplasma sich noch mittingiert hatten, ganz genau so wie es jüngst Duesberg und Hoven (13, S. 96 ff.) für *Pisum* abbildeten. Diese Autoren glauben auch, das von mir und andern Autoren im Plasma der Tapetenzellen beobachtete Chromatin, dessen Austritt aus den Kernen sie leugnen, so erklären zu können, daß sie es wie alle die im Plasma befindlichen stärker färbbaren Substanzen als »Chondriosomen« im Sinne von Meves, d. h. als »Vererbungssubstanz *κατ᾽ ἐξοχήν*« deuten. Ich möchte mich Duesberg und Hoven darin keines-

Für die Anordnung der Tetradenabkömmlinge mache ich auf Textfig. 4 aufmerksam. In *a* haben wir die Reihen-, in *b* die Kreuzanordnung; in *c* und *d* sehen wir je eine überzählige Zelle, während bei *e* sich die eine Dyade gar nicht weiter, die andre unregelmäßig geteilt hat und bei *f* beide Dyaden in Ruhe geblieben sind. Sämtliche Bilder stammen aus der gleichen längsgeschnittenen Anthere; die Größenunterschiede fallen wie bei *Kladi* sehr in die Augen. Die Fig. *g* bis *l* zeichnete ich aus einem Antherenquerschnitt, die drei letzten weisen die Existenz von Sonderzellen auf. — Die Größenunterschiede der Tetraden gegenüber denen von *Kladi* sind wieder sehr auffällig. Der junge Pollen ist ziemlich regelmäßig, verglichen mit der zuerst behandelten Rasse. Da die vier Abkömmlinge einer Pollenmutterzelle selbst bei dem Fehlen von überzähligen Zellen häufig nicht gleich groß sind, war dadurch schon eine hinreichende Erklärung für die tatsächlich zu beobachtenden kleineren Verschiedenheiten gegeben. Schon oben hatten wir erwähnt, daß wir den Pollen bereits in den Antheren auskeimend gefunden hatten.

c) Var. »Radjah Siam«.

Diese Rasse hat in den Gametophytzellen die Chromosomenzahl 16, steht also darin in der Mitte zwischen Var. »*Kladi*« mit 24 und »*Dole*« mit 8 Chromosomen. Sie ist wieder wie *Kladi* javanisch, ich verdanke sie gleichfalls dem malayischen Pflanzensammler Paidan.

Die Entwicklung des Pollens schließt sich zunächst eng an die der beiden vorigen Rassen an, nur daß die Kerne auch der Größe nach eine Mittelstellung einnehmen. Die färbbaren Centren in den somatischen Zellen hielten sich in ihrer Zahl wieder mehr um die haploide als um die diploide Zahl, sie betrugen also Größen, die weit näher der 16 als der 32 standen. Exakte Zählungen, wie ich sie ein paarmal bei *Dole* ausführte, mit »brauchbaren« Resultaten waren mir leider nicht zu machen möglich. Wir müssen wohl annehmen, daß mit der erhöhten Chromo-

---

falls anschließen. Allein die Tatsache der gleichen Färbung mit Hämatoxylin beweist gar nichts. Wenn ich im oben erwähnten Falle die stark tingierbaren Substanzen mit »Chromidien« zu identifizieren suchte, war es deshalb, weil gleichzeitig damit eine deutliche Chromatinabnahme im Nucleus verbunden war und von mir der Austritt dieses ins Plasma beobachtet wurde. Ich möchte auch weiterhin bei meiner bisherigen Deutung für die Tapetenzellen verharren und die Befunde dort in Gegensatz zu denen bei den Pollenmutterzellen bringen, umsomehr als es sich hier um lebenskräftige, dort um bald degenerierende Zellen handelt, ein Unterschied, der von den beiden belgischen Autoren nicht genügend hervorgehoben wurde. Das »besonders starke Funktionieren« der Tapetenzellen ist meines Erachtens mit einem Chromatinverlust der Kerne verbunden, der nicht mehr ersetzbar ist.

somenzahl auch wieder die Wahrscheinlichkeit eines scheinbaren Zusammentretens von mehr als zwei Centren gewachsen ist. Meist waren denn auch die »Prochromosomon« sehr ungleich an Größe. Jedenfalls aber widerspricht keines der Bilder, die ich bei *Radjah Siam* sah, unsrer Deutung der Bilder bei *Dole*.

Eine ausführliche Schilderung werden wir uns von den Prophasen im Hinblick auf die Ausführungen bei *Kladi* ersparen können: die leptotenen Fäden bilden sich sehr allmählich auf Kosten des wabigen Netzwerks und ebenso langsam geht die synaptische Kontraktion vor sich. In Fig. 28 haben wir sie auf dem Höhepunkt. Man beachte wieder den Größenunterschied des Kernes gegenüber dem von *Dole* in gleichem Stadium (Fig. 19). Für die Bildung des Pachynema vermag ich keine Angaben zu machen, die etwa unsre bei *Kladi* gefundenen Daten zu ergänzen vermöchten. Die heterotype Teilung verläuft regelmäßiger als bei dieser Rasse, in Fig. 29 sehen wir eine angeschnittene Spindel ihre Chromosomen ziemlich gleichmäßig nach den beiden Polen ziehen. In einer großen Anzahl von Fällen fand ich denn auch nur zwei Dyaden; als typisch erscheint Fig. 30, ein Bild, das noch im Vergleich mit dem nämlichen Stadium bei *Dole* (Fig. 27) bemerkenswert sein dürfte. In einigen Fällen müssen aber auch versprengte Chromosomen Sonderkerne gebildet haben, wie z. B. Fig. 31 beweist. Hier sind offenbar einige wenige dem Gros vorangegangen, ungefähr ebensoviele hinten nach gefolgt. Denn man sieht die beiden Kleinkerne ganz weit weg hinter dem Spindelpole und unmittelbar in der alten Äquatorialebene gelagert. Wir hätten somit, wenn sich jeder der Kerne mit einem Plasmastück für sich abgegrenzt hätte, anstatt einer schon drei Dyadenzellen erhalten, die sich in der zweiten Teilung anstatt zu den normalen zwei Tetradenzellen einer Hälfte zu sechs hätten formen können. Auf diese Weise sind die Bilder zu erklären, die an Zahl der Teilstücke nicht hinter den gleichen Stadien bei *Kladi* zurückzustehen brauchen (Fig. 36). Aber ich will nochmals besonders betonen, daß ich erheblich öfter als bei *Kladi* ganz regelmäßige »Vierer«-Tetraden sah.

Bei dem Verlauf der homöotypen Mitose hatte ich in meinen Präparaten in sehr vielen Fällen so klare Bilder, daß ich über die Zahl der Chromosomen hier nicht im Zweifel sein konnte. Ich bestimmte sie auf 16. Fig. 32 *a*, *b*, Fig. 33 und Fig. 34 *a*, *b* sollen dies beweisen helfen. (In ersterer sind die Spindelfasern überhaupt nicht eingezeichnet, in den andern nur angedeutet.) Fig. 32 zeigt in zwei aufeinanderfolgenden Schnitten die Anordnung der in der heterotypen Phase schon längsgespaltenen Chromosomen kurz vor der Metakinese; ungefähr das gleiche

Stadium findet sich in Fig. 33, nur sind hier die Dimensionen alle etwas kleiner. Endlich in Fig. 34 haben wir wieder in zwei aufeinander folgenden Schnitten die größtenteils in einer regelmäßigen Spindel eingefügten Chromosomen: die mit Chr. 1 und 12 bezeichneten liegen etwas abseits von den andern; Chr. 2—3 und 6—11 finden sich einander parallel gestellt in der Äquatorialebene, während 4, 5 und 13—16 vielleicht noch nicht ihre Anordnung hier gefunden haben. Geringere Größenunterschiede geben wieder Indizien für morphologische Ungleichwertigkeit der einzelnen Chromosomen ab.

Es fiel mir besonders auf, daß außerdem mehrfach stärkere Größendifferenzen zwischen den Chromosomen der einzelnen Kerne auftreten. Man vergleiche etwa Fig. 33 oder 35 einer- und Fig. 32 andrerseits. Wir erwähnten schon oben, namentlich bei *Kladi*, daß die Größe der Einzelzellen wie der »Tetraden« in ihrer Gesamtheit — wohl infolge von gegenseitigen Beeinflussungen beim Wachstum — auf dem gleichen Stadium nicht auch nur annähernd gleiche Größe haben. Und die in Fig. 22 gezeichneten »zurückgebliebenen« Diakinesen bei *Dole* beweisen es ja auch. Wahrscheinlich ist es mir, daß für diese Erscheinungen in letzter Linie die Chromosomen selbst verantwortlich zu machen sind, die nicht auf die »typische« Größe heranwachsen können[1]). So würden aus Kernen mit Chromosomen von der Größe, die in unsrer Fig. 35 gezeichnet sind, dann Kerne entstehen, die nicht genügend konkurrenzfähig gegenüber den andern sind. Ebenso würde natürlich eine nicht genügende Zahl von Chromosomen die Weiterentwicklung der jungen Pollenkörner hemmen, wie wir das z. B. bei den »überzähligen« Tetradenabkömmlingen sehen. Denn darüber, daß bei *Musa sapientum* in den meisten Rassen nur ein relativ geringer Teil von Pollenkörnern zur völligen Entwicklung kommt, so daß noch eine Teilung des Kernes in einen generativen und einen vegetativen sich vollziehen kann, dürfte kein Zweifel bestehen.

IV. Diskussion.

a) Vergleich der untersuchten Musa-Rassen in bezug auf ihre Kerngröße.

Unser wichtigstes Ergebnis besteht darin, daß die drei ausführlicher studierten Bananen-Rassen in ihren Chromosomenzahlen untereinander

[1]) Daß selbst bei gleichbleibender Chromosomenzahl allein die Größe der Chromosomen die Kern- und Zellgröße bestimmen kann, lehren die Untersuchungen Gregorys (25), welcher bei der normalen wie der Gigas-Rasse von *Primula sinensis* stets 12 (24) Chromosomen, aber bei letzterer immer größere als bei ersterer, aufdeckte.

differieren und zwar so, daß *Musa sapientum* »*Dole*« 8, »*Radjah Siam*« 16, »*Kladi*« 24 als haploide Zahlen führen, sie also im Verhältnis von uni- zu bi- und trivalenten Varietäten stehen. Wir kennen von weiteren pflanzlichen Beispielen bisher nur die Fälle von *Oenothera Lamarckiana* und *gigas* (s. die Zusammenfassung bei Gates [21]) und der von Él. und Ém. Marchal (46) künstlich hergestellten bi- und tetravalenten Rassen bei Moosen, von tierischen die beiden Formen von *Ascaris megalocephala*, und vielleicht ist auch ähnliches bei *Echinus microtuberculatus* anzunehmen (s. Literatur bei Strasburger, 71, S. 46). Eine »trivalente« Rasse wie unsre *Musa* »*Kladi*« dürfte noch nicht beschrieben sein.

Dieser Gesetzlichkeit, daß die eine Rasse immer genau ein Multiplum der Chromosomen der »primären« habe, fügen sich nicht die von Farmer und Miss Digby (14) studierten Rassen von *Athyrium filix-femina* und *Lastrea pseudomas*. Bei ersterem Farn hat die »var. *typica*« 38—40 Chromosomen als Haploidzahl, die »var. *clarissima* Bolton«, »var. *clarissima* Jones« und »var. *unco-glomeratum*« 84, 90 und 100 als diploide (da eine Reduktion niemals vorkommt), während bei dem zweitgenannten Farn die als »*typica*« angesehene Rasse 72, die Varietäten »*polydactyla* Wills, *polydactyla* Dadds und *cristata apospora*« 64—66, 90 und 60 — sämtlich in der Haploidphase — haben, also Zahlen, die sich nur sehr schwer auf 72 irgendwie »beziehen« lassen.

Anzufügen wäre in diesem Zusammenhange noch, daß nahe verwandte Species bei Pflanzen und Tieren sich öfter durch ihre Chromosomenzahlen unterscheiden (s. die Literaturdiskussion bei Gates 21, S. 545 und Strasburger 71); bei einigen kann man mit Leichtigkeit ein Verhältnis von Uni- zu Bivalenz konstruieren, so z. B. zwischen *Drosera rotundifolia* und *longifolia* (Rosenberg), bei andern erscheint dies ebenso wenig möglich wie bei den Farn-Rassen, u. a. bei den von Rosenberg untersuchten Hieracien (58), den Wikstroemien (Strasburger 71) und den Cyclops-Arten (Braun 6, Matschek 47).

Die Gattung *Musa* dürfte hinsichtlich ihrer Chromosomenverhältnisse noch manches Interessante ergeben. In der vorliegenden Abhandlung sei wenigstens gezeigt, wie sich die Kerngrößen der drei näher beschriebenen Rassen zueinander verhalten. Bereits ein Blick auf die Tafeln belehrt uns, daß mit der steigenden Chromosomenzahl auch die Kern -und die Zellgröße zugenommen hat. Schwierig aber war es zu exakten Messungen genau passende Vergleichsstadien zu finden. Ich verfuhr schließlich wie Gates für seine *Oenothera Lamarckiana* und *gigas* (21, S. 535), d. h. ich wählte das Stadium, in dem der Kern seine maximale Größe erreicht hatte: während der Synapsis oder kurz nachher.

Als ich zunächst sämtliche Kerne sämtlicher Antheren wahllos durcheinander maß, bekam ich nur absurde Resultate. Ich sah aber bald, daß eine ganze Menge von Kernen — wohl infolge wechselvoller Ernährung — sehr in ihrem Wachstum zurückblieben. Auf diese Weise wurde für die Rasse *Kladi* die »transgressive Variabilität« nach *Radjah Siam* und *Dole*, für *Radjah Siam* nur nach *Dole* hin so stark bei den Messungen zum Ausdruck gebracht, daß wir gar keine Gesetzmäßigkeiten erhielten. Ganz anders verhielt sich die Sache, wenn ich bei jeder Rasse nur die Pollenfächer berücksichtigte, in denen ziemlich alle Kerne der Maximalgröße, die bei der Rasse vorkam, zustrebten. Hier konnte ich auch einzelne kleiner gebliebene noch in die Messungen aufnehmen; es ergab sich immer eine so auffällige Gesetzmäßigkeit in den Größenverhältnissen der Kerne, daß schon eine geringe Zahl genügte, dies festzustellen. Gates nahm 34 und 27 Messungen für seine Objekte vor, ich werde im folgenden je 25 ganz willkürlich herausgegriffene Kerne nebeneinander stellen. Die Durchmesser (in Teilstrichen des Ocularmikrometers[1]) waren hier:

Dole. mittl. Durchm.	Radjah Siam. mittl. Durchm.	Kladi. mittl. Durchm.
15 : 15 = 15	20 : 19 = 19,5	16 : 22 = 19
13 : 15 = 14	16 : 19 = 17,5	22 : 20 = 21
15 : 11 = 13	22 : 10 = 16	16 : 20 = 18
13 : 15 = 14	20 : 17 = 18,5	20 : 20 = 20
18 : 10 = 14	15 : 22 = 18,5	16 : 20 = 18
15 : 15 = 15	21 : 14 = 17,5	20 : 20 = 20
15 : 13 = 14	20 : 14 = 17	19 : 18 = 18,5
12 : 17 = 14,5	13 : 17 = 15	21 : 20 = 20,5
16 : 10 = 13	10 : 22 = 16	20 : 15 = 17,5
12 : 13 = 12,5	15 : 15 = 15	22 : 16 = 19
14 : 13 = 13,5	15 : 15 = 15	22 : 18 = 20
13 : 15 = 14	10 . 20 = 15	21 : 21 = 21
14 : 11 = 12,5	14 : 21 = 17,5	20 : 18 = 19
10 : 15 = 12,5	24 : 14 = 19	20 : 18 = 19
17 : 12 = 14,5	13 : 22 = 17,5	19 : 20 = 19,5
16 : 13 = 14,5	25 : 13 = 19	20 : 17 = 18,5
19 : 11 = 15	26 : 10 = 18	21 : 18 = 19,5
10 : 15 = 12,5	22 : 13 = 17,5	20 : 17 = 18,5
12 : 14 = 13	12 : 20 = 16	16 : 20 = 18
12 : 14 = 13	17 : 13 = 15	21 : 14 = 17,5
274,0	340.0	382,0

[1]) Der Raum zwischen zwei Teilstrichen entspricht 0,00123 mm.

Dole.	Radjah Siam.	Kladi.
mittl. Durchm. 274,0	mittl. Durchm. 340,0	mittl. Durchm. 382,0
15 : 13 = 14	18 : 24 = 21	17 : 23 = 20
10 : 15 = 12,5	15 : 17 = 16	21 : 21 = 21
10 : 13 = 11,5	12 : 20 = 16	20 : 22 = 21
14 : 12 = 13	16 : 20 = 18	20 : 21 = 20,5
15 : 14 = 14,5	16 : 22 = 19	20 : 22 = 21
339,5	430	485,5
also $d_{,} = 13{,}6$	also $d_{,,} = 17{,}2$	also $d_{,,,} = 19{,}4$
$r_{,} = 6{,}8$	$r_{,,} = 8{,}6$	$r_{,,,} = 9{,}7$
$r_{,}^3 = 314{,}43$	$r_{,,}^3 = 636{,}06$	$r_{,,,}^3 = 912{,}67$

Trotzdem also die Messungen so wenig zahlreich waren, daß die wohl als notwendig zu postulierende Größenverteilung der Kerne nach Galton-Kurven auch noch nicht entfernt dabei zutage trat, genügten sie schon, genau wie bei Gates, um zu zeigen, wie mit der Vergrößerung der Chromosomenzahl aufs doppelte bzw. dreifache auch die Größe der Kernvolumina in gleichem Verhältnis wuchs. Vol. I : Vol. II : Vol. III verhalten sich in unserm Beispiel wie 1 : 2 : 2,9 bzw. 3. Ich möchte noch erwähnen, daß z. B. eine andre Messungsreihe für *Kladi*, zu der ich leider die Belege verloren habe, als mittleren Radius 9,8 und nicht 9,7 ergab. Das würde aber, verglichen mit *Dole*, fast genau ein Verhältnis von 3 : 1 darstellen.

Somit können wir wohl als bewiesen ansehen, daß sich bei unsern *Musa*-Rassen die Kernvolumina zur Zeit der Synapsis wie 1 : 2 : 3 verhalten.

Unser Resultat harmoniert aufs beste mit dem von Gates an *Oenothera*, ebenso mit denen von Él. und Ém. Marchal an Moosen gewonnenen. Diese Autoren massen, sowohl speziell an den in Synapsis befindlichen Kernen, als auch an den Kernen der Sexualzellen, genau wie wir, daß die Vergrößerung der Kernvolumina direkt proportional der der Chromosomen gegangen ist (S. 1276/77 «Rapport entre les volumes des noyaux des cellules mères $\frac{2n}{4n}$ (*Amblystegium serpens*). Avant synapsis $\frac{1}{2{,}1}$; au synapsis $\frac{1}{1{,}7}$». Für die Kernvolumina der Antheridien in den verschiedenen Altersstufen galten (bei *Mnium hornum* gemessen) die Relationen $\frac{1}{1{,}7}$; $\frac{1}{2{,}1}$; $\frac{1}{2}$; desgleichen für die Eizellen $\frac{1}{1{,}9}$. Wie man sieht, differieren die Werte etwas um den Wert 1 : 2.

Diesen botanischen Daten gegenüber würden die Befunde von Boveri selbst stehen, der (5, S. 41) bei seinem Objekt nicht die Kernvolumina, sondern nur die Kernoberflächen der Chromosomenzahl proportional fand. Das Ergebnis ist deshalb merkwürdig (S. 43), »weil man sich die Kernvacuole auf Grund gewisser Erfahrungen als die Summe der Partialbläschen denkt, die je um ein Chromosoma entstehen können. . . . . Darnach möchte man erwarten, daß nicht die Oberfläche, sondern der Inhalt des Kernes der Chromosomenzahl proportional wäre«. Boveris ursprüngliche Erwartungen finden sich nun bei den bisher untersuchten pflanzlichen Individuen realisiert. Die Sonderstellung der Echiniden dürfte mit Boveri dadurch zu erklären sein, daß das Chromatin hier fast ausschließlich die Oberfläche bei dem sich rekonstruierenden Kern bevorzugt, »so daß in manchen Fällen das Innere fast leer ist«. Die pflanzlichen Kerne zeigen darin also noch das primitivere Verhalten.

Wir haben vorläufig nur die Kerne der sporogenen Gewebe miteinander verglichen. Dafür, daß in den somatischen Zellen Abweichungen von der Relation 1 : 2 : 3 zu finden sein werden, sprechen die Untersuchungen von Gates. Ich gedenke dies erst nach Untersuchung auch der übrigen aus den Tropen heimgebrachten Rassen und Arten von *Musa* auszuführen. Ebenso werden wir dann erst die Frage zu erörtern haben, inwieweit das Zellwachstum mit dem der Kerne Hand in Hand gegangen ist. —

Wie sollen wir uns die Entstehung unsrer *Musa*-Rassen vorstellen? Am wahrscheinlichsten scheint es mir bis auf weiteres anzunehmen, daß die bi- und trivalenten Varietäten nicht auf sexuellem Wege entstanden, sondern infolge einer Verdoppelung bzw. Verdreifachung der Chromosomen in gewissen somatischen Zellen ihren Ursprung nahmen. Ich schließe mich darin also ganz Gates und Strasburger an. Nur kommen für *Musa* auch Knospen-Mutationen in Frage, die für *Oenothera gigas* ausgeschlossen sein dürften. In diesem Zusammenhange ist nämlich eine Notiz von Charles Darwin (11) von Interesse. In seinem Werke über das »Variieren der Tiere und Pflanzen im Zustande der Domestikation« Bd. I, S. 481, finden wir folgende Notiz: »Sir R. Schomburgk führt an, daß er auf San Domingo eine Blütenähre an der Feigenbanane sah, welche nach der Basis zu 125 Früchte der eigenen Art trug; diesen folgten weiter nach oben an der Ähre wie gewöhnlich unfruchtbare Blüten und diesen wieder 420 Früchte, welche ein völlig verschiedenes Ansehen hatten und zeitiger als die eigentlichen Früchte reiften. Die abnormen Früchte waren mit Ausnahme des Umstandes, daß sie kleiner waren, denen

der *M. chinensis* oder *Cavendishii* sehr ähnlich, welche allgemein für eine distinkte Species gehalten wird.«

Die Bildung einer bivalenten Rasse aus einer univalenten könnte durch Monaster oder auch nur durch eine überzählige Längsspaltung in den Chromosomen vor sich gehen, die trivalente ebenso durch zwei Spaltungen außerhalb der einen normalen entstanden sein. Die Möglichkeit für ihr Auftreten findet sich bereits bei Strasburger (71, S. 403) angedeutet, wenn er sagt: »wiederholt sich an einzelnen Chromosomen die überzählige Längsspaltung zum zweitenmal, so steigt dementsprechend ihre Gesamtzahl.«

Von Interesse würde nun sein, festzustellen, ob die andern Rassen von *Musa sapientum* in ihren Chromosomen sämtlich acht oder ein Multiplum davon zählen; nicht ausgeschlossen ist es natürlich, daß sich auch Rassen finden, die sich in unsre Reihe gar nicht mehr einordnen lassen.

Wir haben bisher nur die Möglichkeit ins Auge gefaßt, daß die chromosomenreicheren Rassen aus den chromosomenärmeren sekundär entstanden sind. Und dafür spricht ja auch die Tatsache, daß bei *Musa Dole* die Pollenmutterzellteilungen im großen und ganzen regelmäßig, bei *Musa Kladi* hingegen am weitesten alteriert sind[1]). Das gilt sowohl für die Chromosomenverteilung auf die Tochterkerne wie für die Polarität der Spindeln. Ganz unmöglich ist es indes natürlich auch nicht, daß umgekehrt Formen wie *Dole* aus solchen wie *Kladi* oder *Radjah Siam* ihren Ursprung herleiteten. Hierfür könnte man die Neigung anführen, auch in den somatischen Zellen uns scheinbar die reduzierte Chromosomenzahl entgegen treten zu lassen. Eine Aufklärung hoffe ich durch das Studium der weiteren, namentlich der wildwachsenden *Musa*-Arten zu erhalten. Vorläufig möchte ich die erstangeführte Annahme als die wahrscheinlichere gelten lassen.

b) Die Bedeutung der unregelmäßigen Tetradenteilungen bei Musa.

Wir erwähnten eben, daß sich vielleicht Beziehungen zwischen der Pluriploidie des Chromosomensatzes und den Unregelmäßigkeiten während der meiotischen Teilungen herstellen lassen. Das darf uns indes nicht verleiten, im Verfolgen dieser Gedankengänge eine notwendige Erklärung der Abnormitäten zu erwarten, denn dazu sind doch zu viele Analoga

---

1) In diesem Zusammenhange ist auch die Tatsache von Interesse, daß bei Marchals bivalenten Moosvarietäten nur die diöcischen Individuen steril geworden sind, während die monöcischen ihre Fertilität bewahrten.

bekannt, in denen andre Ursachen maßgebend sein dürften. Erinnern wir uns z. B. daran, daß Juel (30) und ich (75) bei *Syringa*-Bastarden, Rosenberg (61) bei *Drosera*-, Gregory (24) bei *Lathyrus*-, ich selbst (74) bei *Bryonia*-, Farmer und Digby (15) bei Farnhybriden ähnliche versprengte Chromosomen und Sonderkerne beschrieben haben, während allerdings andre sterile oder nahezu sterile Bastarde, wie *Ribes Gordonianum* (73), *Mirabilis Jalapa* × *tubiflora* (75) nichts oder fast nichts von solchen Unregelmäßigkeiten erkennen lassen, und auch gewisse tierische unfruchtbare Bastarde (z. B. Poll und Tiefensee 56, S. 164) sich ganz normal verhalten.

Unsre Daten bei *Musa* aber durch einen möglichen Bastardeinfluß bei diesen Arten zu erklären, verhindert die Tatsache, daß bereits frühzeitig Fälle bekannt wurden, in denen auch für Nichthybride die etwa für *Musa Kladi* so charakteristischen Erscheinungen beschrieben wurden. Der erste war wohl Hofmeister, der 1848 bei Passifloren, 1861 bei Irideen und Orchideen — und zwar bei guten Species — die Existenz überzähliger Kerne und Zellen im Pollentetradenverbande nachwies, und 2 Jahre nach der ersten Konstatierung von Hofmeister (1850) entdeckte Wimmel das gleiche für *Fuchsia* (s. die Literaturzitate bei Tangl, 72, S. 83—84). Eine nähere cytologische Untersuchung, allerdings mit unzureichender Technik und mit unrichtigen Resultaten — nahm an *Hemerocallis* zuerst Tangl vor. Dieser Autor wollte die überzähligen Kerne auf nachträgliche Teilungen einiger in den ersten beiden Mitosen entstandener zurückführen, allein Strasburger (66) wies diese Angaben als unrichtig nach, indem er klarlegte, daß es sich überall nur um Kerne handele, die aus »zurückgebliebenen« Chromosomen sich gebildet und dann später eine neue Abgrenzung von Plasma um sich herum erfahren hätten. Eine ausführliche Schilderung mit allen Hilfsmitteln moderner Mikrotechnik verdanken wir schließlich Juel (29), welcher konstatierte, daß sowohl während der hetero- wie der homöotypen Mitose, wenngleich bei dieser weniger häufig, sich diese Unregelmäßigkeiten zeigen können. Die Angabe von Biourge (3), daß selbst kernlose Teilstücke sich absondern sollen, wies er als falsch nach.

Inzwischen hatte Wille 1886 (78) eine Liste für eine ganze Reihe von Pflanzen gegeben, die ähnliche »Tetraden« wie *Hemerocallis* besaßen, und manche waren darunter, bei denen die Abnormität noch weit stärker ausgeprägt war, so *Azalea indica*, *Begonia* spec., *Lonicera coerulea* und die schon von Wimmel angeführte *Fuchsia*. An dieser letztgenannten Gattung begann dann Beer (2) seine cytologischen Forschungen anzustellen. Aus seiner vorläufigen Mitteilung können wir bereits ersehen,

daß im wesentlichen eine gleiche Entstehung der Sonderkerne wie bei *Hemerocallis* anzunehmen ist.

Ferner gibt DE LARY DE LATOUR (40, S. 835) Nachricht davon, daß auch *Agave attenuata* in der heterotypen, jedoch nicht in der homöotypen, Spindel Sonderkerne infolge Zurückbleibens der Chromosomen in der Äquatorialebene bilde. Nur scheint ihr Schicksal schließlich anders zu sein, als bei den bisher genannten Pflanzen. Wenigstens schreibt der Autor darüber: «D'ailleurs le nombre de ces noyaux diminue rapidement, soit par suite de leur fusion avec le noyau principal, soit par suite de leur destruction dans le cytoplasme et l'on ne les trouve que très rarement dans les grains de pollen formés.»

Endlich bringt ROSENBERG (60) als hierhergehöriges Beispiel noch zwei Rosenformen: *R. canina persaticifolia* und *R. glauca Afzeliana* var. *dilatans*. Die sich bildenden Sonderkerne könnten jedoch vielleicht infolge gewisser Anzeichen (zweierlei Sorten von Chromosomen) auf Bastardeinfluß zurückzuführen sein, wenn dies auch nicht diskutiert und bei STRASBURGER (71, S. 29/30) noch ausdrücklich die Nichthybridität hervorgehoben wird.

Jedenfalls würde der letztgenannte ROSENBERGsche Fund dann unter die Rubrik derjenigen Einflüsse fallen, die bei »Mutationen« als maßgebend angenommen werden müssen, wie sie z. B. bei *Oenothera rubrivervis* (GATES, 20), *Polypodium vulgare* var. *elegantissimum* (FARMER und Miss DIGBY, 15) und wohl auch sonst noch öfter vorkommen. Gerade die Tatsache, daß sich diese *Polypodium*-»Art« ähnlich wie der oben erwähnte Bastard *Polypodium Schneideri* verhält, gibt den englischen Autoren noch Gelegenheit, zu betonen: (S. 200) "But its occurrence is evidently not dependent on hybridity, but probably on a disturbance of the normal intracellular processes such as may indeed be brought about by hybridization, but which may also be connected with more proximate nutritional disturbance, whether produced by unfavourable environment or by less obvions causes such as are associated with the formation of a 'sport', as in the present instance". Ganz ähnliche Ansichten haben wir ja schon früher eingehend ausgeführt (75) und die seitherigen Untersuchungen haben uns darin Recht gegeben. Die Meinung, welche GATES (19, S. 99) aussprach, daß man aus dem Vorhandensein von Sonderkernen und -Zellen bei der Tetradenbildung auf möglichen Bastardeinfluß schließen müsse, scheint immer weniger wahrscheinlich zu werden. WILLE glaubte seiner Zeit (78, S. 61), durch die Kultur sei das Variationsvermögen im Sinne DARWINS bei den verschiedenen Pflanzen so gesteigert worden, daß sich die Abweichungen auch auf solche Organe bezögen, die normal

davon nicht betroffen würden. Wir können heute sagen, durch die Kultur ist bei gleichbleibendem Genotypus eine solche Fülle von veränderten Außenbedingungen geschaffen worden, daß dadurch in der individuellen Ontogenese Störungen realisierbar werden, für deren Auftreten am ursprünglichen Standort keine Veranlassung gegeben war.

Die Tatsache, daß gerade die Sexualzellen es sind, vor deren Bildung die Schädigungen eintreten, während die vegetative Entwicklung nicht gelitten zu haben braucht, läßt sich wohl auf Grund namentlich der Untersuchungen von KLEBS (31) dahin verstehen, daß die zufälligen äußeren Bedingungen, unter denen die betreffenden Pflanzen — in unserm Falle *Musa* — leben, besonders für das vegetative Wachstum günstig sind, dagegen nicht für den »kritischen Punkt in der Ontogenese«: die Anlage der Fortpflanzungsorgane. Freilich zeigen KLEBS' Ausführungen für *Sempervivum*, daß hier ein »kritischer Punkt« schon bei der Anlage der Blüten selbst ist. Aber was wir aus den Forschungen dieses Autors lernen können, ist, daß wirklich bestimmte Stoffe es sind, die für das eine oder andre verantwortlich gemacht werden (siehe besonders auch 32, S. 9). Die alten SACHSschen Vorstellungen von blütenbildenden Substanzen sind so in ein modernes exaktes Gewand gekleidet. — Stoffwechselstörungen in der Zelle müssen wir wohl auch für unsre Abnormitäten bei den Reduktionsteilungen heranziehen. Vielleicht erlauben die Außenbedingungen nicht, daß genügend Chromatin gebildet wird, vielleicht, daß nicht in hinreichendem Maße das »Tropho«plasma zur Spindelfaserbildung aktiviert wird (die Hauptabweichungen vom Normalen zeigen sich ja in der Spindel, die nicht polar centriert ist und ihre »Zugfasern« nicht richtig die Chromosomen an die Pole ziehen läßt!) oder ähnliches mehr.

Jüngst vermochte ich zu zeigen, daß in gewissen Pollenkörnern gegen die Regel ein bestimmtes Enzym nicht mehr ausgebildet werden kann und daß hierdurch eine Sterilität bedingt ist, die künstlich noch leicht aufhebbar erscheint (76), nämlich bei den »Beköstigungsantheren« von *Cassia Fistula*. In andern Fällen werden die Hemmungen nicht immer von einem Enzymmangel auszugehen brauchen, wie das vor allem FITTING (18) indirekt bewiesen hat, dadurch daß er klarlegte, wie auch andre Stoffe als die »Wuchsenzyme« für die Gestaltsbeeinflussung in Betracht kommen (s. S. 233). Weiter ist in dieser Richtung, worauf FITTING ebenda aufmerksam macht, bereits die Forschung für die tierischen Zellen gedrungen.

Die Resultate von DUNBAR, wonach sich der veränderte Stoffwechsel im Pollen schon darin zu erkennen geben sollte, daß er sogar serobiologisch

von den Körperzellen sich unterscheide, konnten leider nicht bestätigt werden (MAGNUS und FRIEDENTHAL 45, S. 508). So muß denn die Frage, welche Störungen gerade in den Pollenmutterzellen vor sich gehen, nach wie vor offen bleiben.

Ähnliche Bilder, wie sie bei den oben aufgeführten Hybriden und »reinen Arten« erhalten wurden, bekamen einige Autoren allerdings infolge künstlicher Veränderung der Außenbedingungen. Ich nenne da vor allem KÖRNICKES Arbeit (35), in der gezeigt wurde, wie die Pollenmutterzellen von *Lilium Martagon* durch Bestrahlung mit Röntgen- und Radiumstrahlen Abnormitäten aufweisen, die in gewisser Beziehung unsern an die Seite gestellt werden können. Man vergleiche etwa Fig. 11: Zurückbleiben gewisser Chromosomen, Fig. 21: Bildung von Sonderkernen, Fig. 15: überzählige Tetraden mit unsern entsprechenden Stadien bei *Musa*.

Nach den Angaben KÖRNICKES war die Spindelbildung weit weniger gestört wie in unserm Falle. Ich meine aber doch, daß z. B. das langsame und ungleichmäßige Hingezogenwerden der Chromosomen an die Pole für starke Störungen spricht, auch wenn die »Polarität« nicht so erschüttert ist wie in unserm Beispiel. Ich erinnere ferner an die experimentellen Daten, die sich für narkotisierte Zellen ergaben (s. z. B. SCHILLER 63), der unter gewissen Bedingungen gerade auch durch das Schädigungsmittel Pluripolarität der Mitosen erreichte. — Aber es bedarf offenbar gar nicht solcher Gewaltmittel, um ähnliches hervorzurufen. Eine Fußnote in der Arbeit von FARMER und Miss DIGBY (15, S. 200) weist darauf hin, daß BEER bei *Oenothera biennis* ganz ähnliche Störungen, wie sie auch bei *Polypodium vulgare elegantissimum* vorkamen, bemerkte, wenn er einfach Blüten unter den »ungünstigen Bedingungen« studierte, wie sie der Spätherbst für die Pflanze bietet, während früher im Jahre die Tetradenteilungen ganz nach dem Schema verliefen. Ähnliches hatte bereits früher CANNON (8, S. 169) für seine *Gossypium*-Hybriden gesehen. Und ich meine, hier dürfen wir auch unsere Daten für *Musa* am ersten anknüpfen. Es müßte möglich sein, ausfindig zu machen, ob *Musa*-Arten mit ungestörter Tetradenteilung allein durch ungünstige Außenbedingungen solche Abnormitäten erzeugen können, wie sie etwa bei der Rasse *Kladi* besonders in Erscheinung treten. Die Tatsache, daß mit erhöhter Chromosomenzahl die irreguläre Chromosomenverteilung wuchs, könnte dann vielleicht ihre einfache Deutung dahin finden, daß bei dem Vorhandensein von $2x$ oder $3x$ Chromosomen auch die Chancen für regelmäßige Beförderung aller an die Pole bei alterierter Spindelbildung zum mindesten zwei- bzw. dreimal gegen die Norm sich verschlechtert hätten.

c) Allgemeines über die meiotischen Teilungen.

Es bleibt uns noch übrig, zu untersuchen, ob aus unsern Studien an *Musa* sich auch bestimmte, etwa für die allotypen Phasen durchweg gültige Daten gewinnen lassen, welche geeignet sind, die bei ihrer Deutung noch bestehenden Differenzpunkte aus der Welt zu schaffen. Denn entgegen meiner früheren Ansicht scheint es mir immer wahrscheinlicher zu werden, daß tatsächlich eine große Einheitlichkeit im Verlauf der Reduktionsteilungen im Tier- und Pflanzenreich stattfindet und daß die eine solche Einförmigkeit noch ausschließenden Angaben auf unrichtige Deutung der mikroskopischen Bilder zurückzuführen sind. Einen derartigen Eindruck erhielt ich vor allem bei der Lektüre des jüngst erschienenen Buches von Grégoire (23), der mit bewunderungswürdiger Sorgfalt und großem Geschick in der Darstellung es verstanden hat, auch die scheinbar widerstrebenden Objekte »umzudeuten«. Es ist doch wenigstens jetzt besser als bisher möglich, in der ungeheuren Literatur zu übersehen, wo jedesmal genau die Differenzpunkte liegen.

Darin, daß die erste Teilung die Zahlenreduktion der Chromosomen bringt, die zweite eine Äquationsteilung ist, schienen nahezu alle Autoren — zum mindesten in der Botanik — übereinzustimmen, als ganz neuerdings für zoologische Objekte von Haecker (27) selbst darüber wieder Zweifel aufgeworfen wurden. Der Hallenser Zoologe wurde von dem Bestreben geleitet, die merkwürdigen Vorgänge bei den meiotischen Phasen nach Möglichkeit an das von somatischen Zellen her Bekannte anzuknüpfen und sie ihrer Sonderart zu entkleiden. Ja nach Haecker soll, wenigstens für Copepoden, die definitive Zahlenreduktion, ganz unabhängig von den vorausgegangenen beiden allotypen Mitosen, erst in den Furchungsteilungen bewirkt werden[1]). Für diese radikale Abweichung von dem bisher angenommenen Modus habe ich bei *Musa* keine Anhaltspunkte gefunden. Aber die Gattung scheint mir überhaupt nicht günstig dafür zu sein, die noch strittigen Details zu entwirren. Dazu sind bei zwei der untersuchten Rassen zu viel Chromosomen und bei der Rasse *Dole* war ihre gegenseitige Verklebung zu groß. Das Wenige, was ich zur Aufklärung allgemeiner Fragen beitragen zu können glaube, besteht nicht sowohl darin, daß ich für diese so schwierigen Fragen eindeutige Bilder geben kann, als darin, eine Diskussion vorzunehmen, die

---

[1]) Schon vorher hatte Fick (16, S. 41 ff.) sehr entschieden dagegen Stellung genommen, die Notwendigkeit besonderer Reduktionsteilungen zu postulieren; siehe vor allem den Abschnitt seiner Abhandlung, der sich über den »Vorgang der Zahlenreduktion« äußert (S. 59—69).

die Grégoireschen Ausführungen zu ergänzen bestimmt ist. Sie soll sich beziehen 1) auf das Schicksal der Prochromosomen, 2) auf die Bildung des Pachynema und seiner »Längsspaltung« vor der Diakinese.

Wir erwähnten bereits bei der Darstellung unsrer mikroskopischen Beobachtungen, daß wir in den dem definitiven Archespor voraufgegangenen Teilungen die stark färbbaren Chromatincentren sehr distinkt zu sehen vermochten, wenn ihre Zahl auch, wohl infolge zufälligen Aneinanderlegens, immer geringer war als die der Chromosomen. Während der folgenden Stadien im jungen Archesporkern und dem Leptonema schienen sie vorübergehend verschwunden. Grégoire stellt (wie ähnlich vor ihm Rosenberg 57) zwei Typen von Kernen bezüglich der Prochromosomen auf (S. 338 ff.): «Dans un premier on voit les phénomènes débuter par la transformation du réseau chromatique en un ensemble de filaments minces, eux-mêmes chromatiques, et c'est entre ces filaments minces que se réalise la conjugaison et la syndèse . . . Dans un second type . . . on a donné une description différente . . . La première transformation du réseau consiste en ce que les granules chromatiques abandonnent le réseau pour se distribuer en *n* amas, dénommés gamosomes, en même temps que se produit la contraction synaptique; alors, c'est entre ces gamosomes eux-mêmes que se réalise d'abord la syndèse.» Später sei dann auch gezeigt, daß diese schon im ruhenden Kern vorkämen. Darnach müßte es scheinen, als ob wir hier in ihrem Wesen verschiedene Vorgänge hätten. *Musa* vermittelt nun wohl genügend. Wir fanden hier die Prochromosomen noch kurz vor der Bildung der definitiven Archesporkerne, aber — bei genügender Hämatoxylindifferenzierung — auch wieder bei der Synapsis. Wenn dazwischen im Leptonema die färbbaren Centren verschwunden erscheinen, liegt das wohl in erster Linie an unsrer Färbetechnik, die die vorhanden bleibende Individualität nicht mehr zu erkennen erlaubt und daran, daß vielleicht die Prochromosomen des Typus I wirklich mehr »Chromatin« an das Netz- und Wabenwerk des Kernes abgegeben haben als die des Typus II. Lehrreich in dieser Hinsicht sind auch die Vergleiche mit Lagerbergs *Adoxa* (38, S. 19—23), die ausdrücklich als Repräsentantin von Typus I aufgeführt wird. Und das läßt mich vermuten, daß auch sonst die Prochromosomen real vorhanden und nur für eine kurze Zeitdauer maskiert sind. Damit wird eine wirkliche Gegensätzlichkeit der zwei Typen nicht wahrscheinlich. Unser Resultat wäre somit, daß eine Individualität der Chromosomen auch ganz unabhängig von den zufälligen färberischen chromatischen Bestandteilen gewahrt bleiben kann. Die Vorteile der Individualitätshypothese sind, wie hier nicht näher ausgeführt zu werden braucht,

(s. Strasburger 69) offenbar und mit unsrer Deutung lassen sich auch die zunächst widerstrebenden Bilder ihr unterordnen. Ich vermag allerdings noch nicht zu erkennen, wie sich zu unsern Daten die Funde von Lundegårdt (44) stellen. Dieser Autor, ein Schüler von Rosenberg, sah bei *Trollius* anfangs in den Prophasen auch keine Prochromosomen. (Ob sie wie bei *Musa* und *Adoxa* vielleicht in den Mutterkernen vorher doch da waren, erörtert Lundegårdt nicht!) Dann sammelte sich das »Chromatin« in einigen größeren Klumpen an, deren Zahl schwankend und größer als die Zahl der somatischen Chromosomen war. Die »Lininfäden« differenzierten sich aber hier anscheinend unabhängig vom Chromatin und zogen die chromatische Substanz sekundär an sich. Leider konnte L. noch nicht definitiv entscheiden, ob die Zahl dieser Fäden genau der der Chromosomen entsprach. Stellt sich dieses in der Tat heraus, so könnte die Individualität hier auch ganz unabhängig vom Chromatin gewahrt bleiben, denn die Hauptsache ist doch nicht, daß das, wie wir durch Němec (51) zudem wissen, sich stark verändernde, mit Hämatoxylin dunkelfärbbare »Chromatin« diese Kontinuität des Individuums aufrecht erhält, sondern daß nur überhaupt irgendeine Grundlage dafür existiert. Ein wirklicher Beweis wäre erst dann geliefert, wenn gezeigt werden könnte, wie successiv die »Centren«, um einen ganz neutralen Ausdruck zu brauchen, sich aus dem färberisch ausgezeichneten, durch das farblose wieder zum »Chromatin«-Stadium hin entwickeln. *Trollius* würde dann ein extremes Beispiel für die Unwichtigkeit der tingierbaren Substanzen dabei vorstellen, während dies bei *Musa* nur während einer relativ kurzen Zeit offenbar würde. Und die z. B. von Overton (54, 55) studierten Pflanzen müßten Repräsentanten für das entgegengesetzte Extrem bilden, indem nämlich hier die »Individuen« niemals gänzlich von jenen Substanzen befreit sind, die wir Chromatin nennen. Nachdem wir an ihnen aber erst einmal auf die Existenz der Prochromosomen aufmerksam gemacht sind, werden gerade die Pflanzen vom *Adoxa*-, *Musa*- oder *Trollius*-Typus noch interessantere Resultate zu liefern bestimmt sein.

Damit wollen wir von den Prochromosomen Abschied nehmen und uns jetzt der Frage nach der Bildung des Pachynema zuwenden. Grégoire ist überzeugt, daß es durch Nebeneinanderlagern zweier paralleler Leptonema-Fadensysteme zustande kommt, und unsere Bilder bei *Musa* wie auch die früher von uns an Bastarden (73, 74, 75) geschilderten Vorgänge widersprechen dem nicht. Wenn so selten ein wirklich für alle zwingender Beweis sich geben läßt, so dürfte das daran liegen, daß nur wenig Objekte einen solchen zulassen. Grégoire kann wohl verlangen, daß diejenigen Autoren, welche sich gegen eine Zygotenie aussprechen,

auch wirklich beweisen, daß sie unmöglich ist. Das aber dürfte bisher keinem gelungen sein! Eine andre Frage aber ist es, ob diese Parasyndese definitiv oder nur vorübergehend ist. GRÉGOIRE verficht letztere Ansicht und mit ihm OVERTON, CARDIFF und ROSENBERG (S. 363). Hier aber sehe ich z. Z. noch keinen bündigen Beweis in seinem Sinne vorliegen. Die Meinung, daß die Verschmelzung eine völlige und die, kurze Zeit darauf im Strepsinema sich markierende, Längsspaltung ein Novum ist, dürfte nach meinem Dafürhalten noch genau so überzeugend sich verteidigen lassen. Es scheint mir, als wenn GRÉGOIRE bei der Abfertigung der Anhänger dieser Hypothese doch nicht genügend die Daten berücksichtigt hat, die an vegetativen Zellen gewonnen wurden[1]. Wir wissen aus einer Reihe von Fällen, daß in Kernen, deren Stoffwechsel abnorm gesteigert ist, nicht nur eine starke Vermehrung des Chromatins, sondern selbst eine deutliche Längsspaltung außer der normalen bei der Mitose eintretenden oder doch wenigstens ein Anlauf dazu stattfindet. ROSENBERG (57) beschreibt dies für die Kerne der Suspensorzellen von *Capsella*, v. GUTTENBERG (26) für die infolge von Parasiten gereizten Kerne bei *Adoxa*, ROSENBERG (61, S. 47) für Kerne aus dem Connectiv von *Drosera*, das durch ein Insekt angestochen war[2]. NĚMEC (50, S. 207ff.) sah an dekapitierten Wurzeln von *Asplenium decussatum*, daß die durch Hyperchromasie erreichte höhere Chromosomenzahl sich sogar während der folgenden Kernteilungen erhalten konnte. Und STRASBURGER (69)

[1]) Außerdem bekämpft GRÉGOIRE in seiner Arbeit nur diejenigen Autoren, die das Verschwinden der bivalenten Strukturen erst auf die somatischen Zellen legen (VEJDOVSKI, BONNEVIE usw.). Dagegen setzt er sich mit STRASBURGER nicht scharf genug auseinander, der die Fusion der beiden Fäden vorübergehend für eine feste hält (s. z. B. 69, S. 562 ff.). Hierbei wird doch eine starke Beeinflussung des Stoffwechsels postuliert und der Satz bei GRÉGOIRE S. 357: . . . «s'il y a eu fusion, elle n'a été que temporaire» würde, ganz streng gefaßt, bedeuten, daß bei Auftreten der »ersten Längsspaltung« die beiden Paarlinge nicht mehr die alten, sondern verändert sind. Das heißt aber: im Pachynema ist die u r s p r ü n g l i c h e Einheit definitiv untergegangen, die beiden Hälften, welche in dem Strepsinema als die »alten, aber veränderten« Paarlinge sich zeigten, k ö n n t e n so verschieden gegenüber den in die Fusion eintretenden sein, wie die beiden ersten aus dem Zygotenkern sich bildenden Tochternuclei verschieden sind von den beiden Gametenkernen, selbst wenn diese m o r p h o l o g i s c h ihnen gleichen würden! Ich glaube, daß selbst aus den STRASBURGERschen Arbeiten diese Präzisierung des Problems nicht scharf genug hervortritt. Es hätte ihn sonst eigentlich GRÉGOIRE auch als einen ausdrücklichen Gegner einer »p s e u d o reduktionellen Zygotenie« bezeichnen müssen.

[2]) So scheint mir wenigstens die wahrscheinlichste Deutung der Tatsache, daß die Zahl der »doppelten« Chromosomen 20 anstatt der normalen 10 war. Von Interesse ist dieser Fall noch dadurch, daß die Kerne »archesporähnlich« geworden waren.

endlich, um keine weiteren Beispiele zu nennen, führte auf die gleichen Vorgänge die von Guignard (1882) zuerst beschriebene Eigentümlichkeit zurück, daß im unteren Embryosackkern von *Lilium* bei besonders kräftiger Ernährung die Chromosomenzahl gegen die Norm selbst verdoppelt werden kann. Wollen wir diese Funde mit den Bildern, die sich dem unbefangenen Beurteiler bei Betrachtung der heterotypen Prophasen bieten, vergleichen, so könnten wir sagen: Es handelt sich beide Male um Längsspaltungen de novo. Das Verschmelzen der beiden Chromatinanteile in der Synapsis würde auf den Stoffwechsel des Kernes denselben Reiz ausüben, wie er bei der starken Ernährung in den Chromosomen von *Lilium* postuliert werden muß. Die Teilungsfähigkeit der Chromosomen würde sich infolge der Copulation so vermehrt haben, wie nach manchen Autoren infolge der Zellverschmelzung im Copulationsakte die Teilungen des befruchteten Eies besonders angeregt werden. Nun meint aber Grégoire, daß sich die Fälle, in denen überzählige Längsspaltung in somatischen Kernen beobachtet wurde, in ihrem Aussehen von den längsgespaltenen »Gemini« prinzipiell unterscheiden (S. 358ff.). Für viele Fälle mag es zutreffen, daß die genau parallel gelagerten wirklichen »Hälften« eines Chromosoms einen andern Anblick gewähren wie die oft mehrfach gewundenen und gedrehten univalenten Partner eines der Geminipaare. Aber es existieren wohl unzweifelhaft Beispiele, wo sich in somatischen Zellen nicht nur Längsspaltungen wie in den Archesporkernen ausbilden, sondern wo sich sogar die gleiche Zahlenreduktion abspielt. Grégoire führt (S. 230) ja selbst die Beobachtungen auf, die über solche »Tetradenfiguren« berichten, wie sie in den Reifungsteilungen mit der Chromosomen-Reduktion verknüpft erscheinen. Aber er erwähnt noch: «Dans ces différents cas, les tétrades se comptent, non pas en nombre réduit, mais en nombre normal.» Das stimmt nun nicht ganz für sämtliche der von Schiller (63) beschriebenen Eigentümlichkeiten seiner narkotisierten *Cyclops*-Eier. Dieser Autor meint, daß bei besonderer Versuchsanordnung durch das Narkotikum tatsächlich eine Zahlenreduktion habe hervorgerufen werden können. Fräulein Krimmel (36, S. 786) gibt zwar an, daß nach Amma hier vielleicht eine Verwechslung von *Cyclops strenuus* mit einer Species vorlag, die die halbe Normalzahl von dieser aufwies, aber es folgt aus ihren eigenen Befunden, daß eine »scheinbare« Reduktion durch Zusammenlegen zweier Chromosomen zu einem auch ohne Narkotikum öfter vorkommen kann[1]). Für die Prochromosomen

[1]) Man vergleiche auch die Angaben von Wóycicki (80), daß bei Ätherisierung der ♂ Blüten von *Larix dahurica* eine nochmalige, zweite Zahlenreduktion der Chromosomen sich einfinden soll. Vielleicht handelt es sich nur um ein dichtes Nebenein-

haben wir es ja bei *Musa Dole* ziemlich sicher zu zeigen geglaubt und auch sonst sind die Beobachtungen hierfür nicht gerade selten (s. auch Strasburger bei *Wikstroemia*, 70).

Für unsre Frage von großem Interesse wären aber die Kerne, die eine solche Parallellagerung bis zur Verschmelzung geführt haben und infolgedessen eine Längsspaltung gegen die Regel erhielten. Ein derartiges Beispiel könnte sich vielleicht in einem von Lagerberg beschriebenen Falle vorfinden (38, S. 53, 72), der in den Griffelbasen von *Adoxa* und *Sambucus* ein specifisch »leitendes« Zellgewebe sah, dessen Kerne »allem Anschein nach dieselben Veränderungen« durchmachen können, »die das Chromatin der Archesporzellkerne in den Prophasen kennzeichnen. Die Entwicklung bleibt aber meistens mit der Synapsis stehen«. Bei *Sambucus* macht das Chromatin jedoch »sämtliche Stadien der Prophasen durch« (von mir gesperrt.). Die Doppelchromosomen konnten in der Diakinese in reduzierter Zahl gezählt werden. Es scheint Lagerberg nicht ausgeschlossen, daß die folgende Mitose sich tatsächlich als echte Reduktionsteilung abspielt. Haecker (27, S. 191) betont als gesichertes Ergebnis, »daß die Bivalenz der Elemente außerhalb der Reifungsperiode sich einzustellen vermag« und daß (S. 185) »die heterotypische Teilung . . . . nicht die isolierte Stellung einnimmt, welche ihr vielfach zugeschrieben wird«. Damit wäre aber auch das Auftreten von zwei rasch hintereinander erfolgenden Längsspaltungen postuliert, genau wie wir es von dem Archespor her kennen. Eine Bivalenz »bis nur zur Berührung« nahmen wir ja bei *Wikstroemia*, *Musa* usw. in somatischen Zellen öfters an. Damit war aber keine Reduktionsteilung ausgelöst. Wenn nun im vegetativen Gewebe eine derartige auftritt, so muß diese Bivalenz von der »scheinbaren« sich verschieden verhalten; aus der andern Folge muß auf eine andre Ursache geschlossen werden. Und da scheint mir die einfachste Annahme die zu sein, daß die Berührung hier bis zur definitiven Verschmelzung gegangen ist. Grégoire führt nun freilich Fälle an, in denen eine dauernde Trennung der beiden Fadensysteme bewiesen erscheint, er meint, daß diesen gegenüber die Anhänger einer definitiven Verschmelzung die Pflicht hätten zu beweisen, daß diese nicht nur eine »scheinbare« sei, vorgetäuscht durch die unvollkommene Technik; demgegenüber frage ich mich aber mit Strasburger (69, S. 565): »Wozu das ganze Spiel?« Dieser

---

anderlagern von je zwei und zwei bivalenten Paaren zu einer »pseudotetravalenten« Einheit. Die Beobachtungen des Verfassers sind von andrer Seite noch nicht bestätigt worden.

Autor nimmt ja währenddes eine chemische Beeinflussung der »beiden elterlichen Chromatinanteile« an und er hat GRÉGOIRE ja auch bezüglich des eben gemachten Einwurfes eine Antwort gegeben (S. 566), der ich mich voll anschließen möchte[1]).

Ich möchte noch entschiedener als STRASBURGER es für wahrscheinlich halten, daß die Fusion in der Mehrzahl der Fälle selbst länger dauern kann und daß durch sie und nur durch sie der notwendige Grund gelegt wird zu der gleich darauf eintretenden »überzähligen Längsspaltung«. So allein scheint mir eine Verknüpfung mit den von vegetativen Zellen her gefundenen Daten gesichert und ein indirekter Beweis für die Unrichtigkeit von GRÉGOIRES Auffassung gegeben.

Die überreiche botanisch-zoologische Literatur brauche ich glücklicherweise hier nicht ausführlich zu erörtern. Das findet sich alles sehr übersichtlich bei GRÉGOIRE, und meine Ausführungen sollten ja nur eine Ergänzung in den Punkten darstellen, in denen ich mit dem belgischen Forscher differiere.

V. Zusammenfassung der wichtigsten Resultate.

1. Die einzelnen Rassen der Eßbanane (*Musa sapientum*) können sich in ihren Chromosomenzahlen voneinander unterscheiden. »*Dole*« hat acht, »*Radjah Siam*« 16, »*Kladi*« 24 als reduzierte Zahlen. Diese drei Rassen können wir somit als var. *univalens*, *bivalens* und *trivalens* bezeichnen.

---

[1]) Inzwischen ist auch T. H. MORGAN (Chromosomes and heredity. American Naturalist. Vol. XLIV, p. 449—496, August 1910) zu der Überzeugung gekommen, daß es sich bei der Zygotenie nicht um einfache Anlagerung, sondern um eine intime Verschmelzung der Chromatinkomplexe handele, wenngleich er vorsichtig sagt (S. 464): "The situation calls, at least, for a suspension of judgement until we have more evidence". Aber MORGAN weist schon jetzt darauf hin, um wie außerordentlich viel wahrscheinlicher die »erste« Längsspaltung nicht einfach in der Vereinigungslinie, sondern in einer beliebigen andern, z. B. unter einem Winkel von 90° verlaufenden, erfolge. Sonst hätte der ganze Vorgang der Zygotenie keinen tieferen Sinn. Verfasser entwickelt sodann noch besonders instruktiv, wie die darnach zu postulierende »Unreinheit der Gameten« sich mit den experimentellen Erfahrungen der Mendelianer vertrage, trotzdem zunächst ein reines Aufspalten der beiderelterlichen differenten Erbmassen als notwendige Vorbedingung für die Erklärung der Zahlenverhältnisse bei der Nachkommenschaft erschien. MORGAN gelangt also ganz unabhängig von mir zu Ansichten, die mit den von mir (75, S. 122—129) ausgesprochenen viel Gemeinsames haben, wenngleich meine Beweisführung heute eine etwas andre sein müßte als vor 2 Jahren. Darauf, wie auf seine Betonung der relativen Unwichtigkeit der Chromosomenzahl für die specifischen Erbcharaktere soll erst in der zweiten Mitteilung über *Musa* eingegangen werden. (Zusatz bei der Korrektur.)

2. Im gleichen Stadium verhalten sich nicht die Kernoberflächen, wie Boveri will, sondern die Kernvolumina wie 1 : 2 : 3. Darin schließt sich *Musa* den von Gates studierten Oenotheren und den von Él. und Ém. Marchal künstlich hergestellten pluriploiden Varietäten von Moosen an. Gemessen wurden die Archespor-Nuclei z. Z. der Synapsis.

3. Mit der Vermehrung der Chromosomenzahl scheinen die Störungen in der Pollenentwicklung zuzunehmen.

4. Diese Störungen bestehen darin, daß die Chromosomen in die hetero- wie die homöotype Spindel nicht mehr normal einbezogen werden, so daß sie zurückbleiben und Sonderkerne bilden. Die Größe der Kerne und der zugehörigen Plasmaportionen innerhalb einer Tetrade stehen in ungefähr demselben Verhältnis.

5. Die Größe der Gesamttetraden innerhalb einer Anthere differiert beträchtlich, trotzdem sich in der Summe ihrer Kerne jedesmal die gleiche Chromosomenzahl befindet. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die Chromosomen selbst nicht immer bis zu ihrer »typischen« Größe heranzuwachsen vermögen.

6. Ein Teil der Pollenkörner kann auch bei sehr abnormer Tetradenteilung der betreffenden Rasse völlig normale Pollenschläuche treiben.

7. In den ruhenden somatischen Kernen waren außerordentlich scharf die als Prochromosomen bezeichneten stärker mit Hämatoxylin färbbaren Centren zu sehen. Ihre Zahl entsprach kaum je der diploiden Chromosomenzahl, weil eine ziemlich ausgeprägte Tendenz bestand, je zwei — manchmal auch mehr — zu einem Mittelpunkt zusammentreten zu lassen. *Musa Dole* (mit der kleinsten Chromosomenzahl) erlaubte in einigen Fällen völlig sicher die Übereinstimmung der Prochromosomenzahl mit der der Chromosomen zu konstatieren. Die öfter zutage tretende reduzierte Zahl muß nur »pseudohaploid« sein, damit stimmt auch überein, daß keine Reduktionsteilung durch solches einfaches Aneinanderlagern ausgelöst wird.

8. Noch in den Mutterkernen der definitiven Archespornuclei markieren sich die Prochromosomen deutlich, in diesen selbst sind sie für eine gewisse Zeit unsern Augen entschwunden. Trotzdem müssen sie erhalten bleiben, da eine bestimmte Differenzierung der Präparate sie wieder in der Synapsis-Phase als scharf konturierte Körper hervortreten läßt.

9. Die Bildung des Pachynema aus dem Leptonema und seine Längsspaltung konnte ich bei *Musa* bisher nicht mit der wünschenswerten Deutlichkeit verfolgen. Wahrscheinlich ist mir eine Copulation der Prochromosomen während der synaptischen Kontraktion der Leptonema-

Fäden als Grundlage der Zahlenreduktion. Die im Strepsinema zu beobachtende erste »Längsspaltung« scheint mir — nach Heranziehung der cytologischen Erfahrungen an vegetativen Zellen —, eine echte und nicht nur eine Schein-Längsspaltung zu sein, da ich an eine vorherige völlige Fusion der beiderlei chromatischen Systeme glaube.

Heidelberg, (Botanisches Institut der Universität).

Zusatz bei der Korrektur:

Erst während der Drucklegung des Manuskripts bekam ich das neueste Buch von Němec: »Das Problem der Befruchtungsvorgänge und andre cytologische Fragen.« Berlin 1910, zu Gesicht. So kann ich leider nicht mehr an dieser Stelle auf seine interessanten Resultate und anregenden Diskussionen eingehen, die einige der von mir erörterten Fragen näher berühren.

Verzeichnis der zitierten Literatur.

1. Ascherson, P. Acorus Calamus in »Lebensgeschichte der Blütenpflanzen Mitteleuropas«. Bd. I. 3. S. 5—7. Stuttgart 1908.
2. Beer, R. The supernumerary pollen-grains of Fuchsia. Annals of Botany. Vol. XXI. p. 305—307. 1907.
3. Biourge, Ph. Recherches morphologiques et chimiques sur les grains de pollen. Cellule. T. VIII. p. 45—80. 2 pl. 1892.
4. Bonnevie, Kr. Über die Rolle der Centralspindel während der indirekten Zellteilung. Archiv f. Zellforsch. Bd. V. S. 1—35. Taf. 1—3. 4 Fig. 1910.
5. Boveri, Th. Über die Abhängigkeit der Kerngröße und Zellenzahl der Seeigel-Larven von der Chromosomenzahl der Ausgangszellen. Zellenstudien. Bd. V. 80 Seiten. 2 Tafeln. 7 Fig. 1905.
6. Braun, H. Die specifischen Chromosomenzahlen der einheimischen Arten der Gattung Cyclops. Archiv f. Zellforsch. Bd. III. S. 449—482. Taf. 24—25. 1909.
7. de Candolle, A. Der Ursprung der Kulturpflanzen (übersetzt von E. Goeze). 590 Seiten. Leipzig 1884.
8. Cannon, W. A. Studies in plant hybrids. The spermatogenesis of hybrid cotton. Bull. Torrey bot. Club. Vol. XXX. p. 133—172. pl. 7—8. 1903.
9. Correns, C. Einige Bastardierungsversuche mit anomalen Sippen und ihre allgemeinen Ergebnisse. Pringsh. Jahrb. f. wiss Bot. Bd. XLI. S. 458 bis 484. Taf. 5. 1 Fig. 1905.
10. Coulter, J. M. u. Chamberlain, Ch. J. Morphology of Angiosperms. 348 Seiten. 113 Fig. New York u. London. 1903.
11. Darwin, Ch. Das Variieren der Tiere und Pflanzen im Zustande der Domestication (übersetzt von J. V. Carus). Bd. I u. II. 530 u. 639 Seiten. 43 Fig. Stuttgart 1868.

12. Davis, B. M. Cytological studies on Oenothera. I. Pollen development of Oenothera grandiflora. Annals of Botany. Vol. XXIII. p. 551—571. pl. 41—42. 1909.
13. Duesberg, J. u. Hoven, H. Observations sur la structure du protoplasma des cellules végétales. Anatom. Anzeiger. Bd. XXXVI. S. 96—100. 5 Fig. 1910.
14. Farmer, J. B. u. Digby, L. Studies on apospory and apogamy in Ferns. Annals of Botany. Vol. XXI. p. 161—199. pl. 16—20. 1907.
15. —— On the cytological features exhibited by certain varietal and hybrid Ferns. Annals of Botany. Vol. XXIV. p. 191—212. pl. 16—18. 1910.
16. Fick, R. Vererbungsfragen, Reduktions- und Chromosomenhypothesen, Bastard-Regeln. Ergebn. Anatomie u. Entwicklungsgeschichte. Bd. XVI. 140 Seiten. Wiesbaden 1907.
17. —— Zur Conjugation der Chromosomon. Archiv f. Zellforsch. Bd. I. S. 604 bis 611. 1908.
18. Fitting, H. Entwicklungsphysiologische Probleme der Fruchtbildung. Biolog. Centralbl. Bd. XXIX. S. 193—206, 225—239. 1909.
19. Gates, R. R. Pollen development in hybrids of Oenothera lata × O. Lamarckiana, and its relation to mutation. Bot. Gaz. Vol. XLIII. p. 81—115. pl. 2—4. 1907.
20. —— A study of reduction in Oenothera rubrinervis. Bot. Gaz. Vol. XLVI. p. 1—34. pl. 1—3. 1908.
21. —— The stature and chromosomes of Oenothera gigas, de Vries. Archiv f. Zellforsch. Bd. III. p. 525—552. 1909.
22. Geerts, J. M. Beiträge zur Kenntnis der Cytologie und der partiellen Sterilität von Oenothera Lamarckiana. Rec. Trav. bot. Néerl. Bd. V. S. 93—208. pl. 5—22. 1909.
23. Grégoire, V. Les cinèses de maturation dans les deux règnes. L'unité essentielle du processus méiotique (II. Mém.). Cellule. T. XXVI. p. 223—422. 145 fig. 1910.
24. Gregory, R. P. The abortive development of the pollen in certain sweet-peas (Lathyrus odoratus). Proc. Cambridge phil. Soc. Vol. XIII. p. 148—157. pl. 1—2. 1905.
25. —— Note on the histology of the giant and ordinary forms of Primula sinensis. Proc. Cambridge phil. Soc. Vol. XV. p. 239—246. pl. 10. 1 fig. 1909.
26. v. Guttenberg, H. Cytologische Studien an Synchytrium-Gallen. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLVI. S. 453—477. Taf. 13—14. 1909.
27. Haecker, V. Ergebnisse und Ausblicke in der Keimzellenforschung. Zeitschr. f. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre. Bd. III. S. 181—200. 5 Fig. 1910.
28. Johannsen, W. Elemente der exakten Erblichkeitslehre. 515 S. 31 Fig. Jena 1909.
29. Juel, H. O. Die Kernteilungen in den Pollenmutterzellen von Hemerocallis fulva und die bei denselben auftretenden Unregelmäßigkeiten. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXX. S. 205—226. Taf. 6—8. 1897.
30. —— Beiträge zur Kenntnis der Tetradenteilung. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XXXV. S. 626—659. Taf. 15—16. 1900.

31. Klebs, G. Über Variationen der Blüten. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Bot. Bd. XLII. S. 155—320. Taf. 8. 27 Fig. 1906.
32. —— Über die Nachkommen künstlich veränderter Blüten von Sempervivum. Sitz.-Ber. Heidelberger Akad. d. Wiss. Math.-naturw. Kl. Jahrg. I. 32 S. 1 Taf. 2 Fig. 1909.
33. Körnicke, M. Studien an Embryosack-Mutterzellen. Sitz.-Ber. Niederrh. Ges. f. Natur- u. Heilkunde. (Sep.) 9 S. 1901.
34. —— Der heutige Stand der pflanzlichen Zellforschung. Ber. d. D. bot. Ges. Bd. XXI. S. (66)—(134). 1904.
35. —— Über die Wirkung von Röntgen- und Radiumstrahlen auf pflanzliche Gewebe und Zellen. Ber. d. D. bot. Ges. Bd. XXIII. S. 404—415. Taf. 18. 1905.
36. Krimmel, O. Chromosomenverhältnisse in generativen und somatischen Mitosen bei Diaptomus coeruleus nebst Bemerkungen über die Entwicklung der Geschlechtsorgane. Zool. Anzeiger. Bd. XXXV. S. 778—793. 16 Fig. 1910.
37. Küster, E. Über die Verschmelzung nackter Protoplasten (V. M.). Ber. d. D. bot. Ges. Bd. XXVII. S. 589—598. 1909.
38. Lagerberg, T. Studien über die Entwicklungsgeschichte und systematische Stellung von Adoxa Moschatellina L. K. Sv. Vet. Ak. Handl. Bd. XLIV. Nr. 4. 86 S. 3 Taf. 1909.
39. Laibach, F. Zur Frage nach der Individualität der Chromosomen im Pflanzenreich. Beih. bot. Centralbl. Bd. XXII. Abt. 1. S. 191—210. Taf. 8. 1907.
40. de Lary de Latour, E. Sur des particularités cytologiques du développement des cellules mères du pollen de l'Agave attenuata. C. R. Ac. Scienc. Paris. T. CXLVI. p. 833—836. 1908.
41. Lemoine, E. Hybrids between the common lilac and the laciniate Persian lilac. Journal of the royal Hortic. Soc. Vol. XXIV. Hybrid Conf. Rept. p. 299 to 311. fig. 112—121. 1900.
42. Lepeschkin, W. W. Zur Kenntnis der Plasmamembran. I. Ber. d. D. bot. Ges. Bd. XXVIII. S. 91—103. 1910.
43. Lidforss, B. Zur Biologie des Pollens. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. XXIX S. 1—38. 1896.
44. Lundegårdt, H. Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger dikotyler Pflanzen. Svensk bot. Tidskr. Bd. III. p. 78—124. Taf. 2—3. 1909.
45. Magnus, W. u. Friedenthal, H. Verhalten sich die somatischen und Geschlechtszellen der Pflanzen serobiologisch wie artfremde Zellen? Zeitschr. f. Immunitätsforschnng u. experiment. Therapie. I. T. Originale. Bd. V. S. 505 bis 508. 1910.
46. Marchal, Él. u. Ém. Aposporie et sexualité chez les Mousses II. Bull. Acad. royale de Belgique. Cl. d. sc. Nr. 12. p. 1249—1288. 1909.
47. Matschek, H. Über Eireifung und Eiablage bei Copepoden. Archiv f. Zellforschung. Bd. V. S. 36—119. Taf. 4—8. 30 Fig. 1910.
48. Miyake K., Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Monokotylen. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. XLII. S. 83—120. Taf. 3—5. 1906.
49. Mücke, M. Über den Bau und die Entwicklung der Früchte und über die Herkunft von Acorus Calamus L. Bot. Ztg. Bd. LXVI. Abt. 1. S. 1—23. Taf. 1. 6 Fig. 1908.

50. Němec, B. Studien über die Regeneration. 387 S. 180 Fig. Berlin 1905.
51. —— Zur Mikrochemie der Chromosomen. Ber. d. D. bot. Ges. Bd. XXVII. S. 43—47. 1909.
52. Norén, C. O. Zur Entwicklungsgeschichte des Juniperus communis. Upsala Univ. Årsskr. Matem. och naturvetensk. Bd. I. 64 S. 4 Taf. 1907.
53. Ostenfeld, C. H. Further studies on the apogamy and hybridization of the Hieracia. Zeitschr. f. indukt. Abstammungs- u. Vererbungslehre. Bd. III. p. 241—285. pl. 4. 1910.
54. Overton, J. B. Über Reduktionsteilung in den Pollenmutterzellen einiger Dikotylen. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. XLII. S. 121—153. 1906.
55. —— On the organisation of the nuclei in the pollen mother cells of certain plants with especial reference to the permanence of the chromosomes. Annals of Botany. Vol. 23. p. 19—61. pl. 1—3. 1909.
56. Poll, H. u. Tiefensee, W. Mischlingsstudien: die Histiologie der Keimdrüsen bei Mischlingen. Sitz.-Ber. Ges. naturforsch. Freunde. Berlin. Jahrg. 1907. S. 157—167. Taf. 1—2. 1907.
57. Rosenberg, O. Über die Individualität der Chromosomen im Pflanzenreich. Flora. Bd. XCIII. S. 251—259. 7 Fig. 1904.
58. —— Cytological studies on the apogamy in Hieracium. Botan. Tidskr. Vol. XXVIII. p. 143—170. 2 pl. 1907.
59. —— Zur Kenntnis der präsynaptischen Entwicklungsphasen der Reduktionsteilung. Svensk. bot. Tidskr. Bd. 1. S. 398—410. Taf. 7. 1907.
60. —— Über die Chromosomenzahlen bei Taraxacum und Rosa. Svensk. bot. Tidskr. Bd. III. S. 150—162. 7 Fig. 1909.
61. —— Cytologische und morphologische Studien an Drosera longifolia × rotundifolia. K. Sv. Vet. Ak. Handl. Bd. XLIII. Nr. 11. 64 S. 4 Taf. 33 Fig. 1909.
62. Sagot, P. Bananier Féhi, sa forme asperme et sa forme séminifère. Bull. Soc. bot. de France. T. XXXIII. p. 317—326. 1886.
63. Schiller, J. Über künstliche Erzeugung »primitiver« Kernteilungsformen bei Cyclops. Roux's Archiv f. Entw.-Mech. Bd. XXVII. S. 560—609. 62 Fig. 1909.
64. Schumann, K. Musaceae. Das Pflanzenreich (herausgeg. von Engler). IV. 45. 45 S. 10 Fig. Leipzig 1900.
65. Shattuck, Ch. H. The origin of heterospory in Marsilia. Bot. Gaz. Vol. XLIX. p. 19—40. pl. 3—6. 1910.
66. Strasburger, E. Über den Teilungsvorgang der Zellkerne und das Verhältnis der Kernteilung zur Zellteilung. Archiv f. mikr. Anatomie. Bd. XXI. S. 476—590. Taf. 25—27. 1882.
67. —— Über Reduktionsteilung. Sitz.-Ber. K. Akad. d. Wissensch. Berlin. Physik. math. Kl. XVIII. S. 587—614. 9 Fig. 1904.
68. —— Über die Individualität der Chromosomen und die Pfropfhybriden-Frage. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. XLIV. S. 482—555. Taf. 5—7. 1 Fig. 1907.
69. —— Chromosomenzahlen, Plasmastrukturen, Vererbungsträger und Reduktionsteilung. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. XLV. S. 479—570. Taf. 1—3. 1908.
70. —— Zeitpunkt der Bestimmung des Geschlechts, Apogamie, Parthenogenesis und Reduktionsteilung. Histol. Beiträge. Heft 7. 124 S. 3 Taf. Jena 1909.

71. Strasburger, E. Chromosomenzahl. Flora. Bd. C. S. 398—446. Taf. 6. 1910.
72. Tangl, E. Die Kern- und Zellteilungen bei der Bildung des Pollens von Hemerocallis fulva L. Denkschrift d. K. Akad. Wiss. Wien. Math.-natw. Kl. Bd. XLV. S. 67—86. 4 Taf. 1882.
73. Tischler, G. Über die Entwicklung des Pollens und der Tapetenzellen bei Ribes-Hybriden. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. XLII. S. 545—578. Taf. 15. 1906.
74. — Über die Entwicklung der Sexualorgane bei einem sterilen Bryonia-Bastard. Ber. d. D. bot. Ges. Bd. XXIV. S. 83—96. Taf. 7. 1906.
75. —— Zellstudien an sterilen Bastardpflanzen. Archiv f. Zellforsch. Bd. I. S. 33 bis 151. 120 Fig. 1908.
76. —— Untersuchungen über den Stärkegehalt des Pollens tropischer Gewächse. Pringsh. Jahrb. f. wiss. Botan. Bd. XLVII. S. 219—242. 1910.
77. Wiegand, K. M. The development of the embryo-sac in some monocotyledonous plants. Bot. Gaz. Vol. XXX. p. 25—47. pl. 6—7. 1900.
78. Wille, N. Über die Entwicklungsgeschichte der Pollenkörner der Angiospermen und das Wachstum der Membran durch Intussusception. Kristiania Vid. Selsk. Forh. Nr. 5. 71 S. 3 Taf. 1886.
79. Winkler, Hans. Über Parthenogenesis und Apogamie im Pflanzenreiche. Progr. rei botanic. Bd. II. S. 293—454. 14 Fig. 1908.
80. Wóycicki, Z. Über die Einwirkung des Äthers und des Chloroforms auf die Teilung der Pollenmutterzellen und deren Produkte bei Larix dahurica. Bull. de l'acad. d. scienc. de Cracovie, Cl. d. sc. math. et nat. p. 506—553. pl. 16—18. 1906.
81. Wulff, E. Über Pollensterilität bei Potentilla. Österr. bot. Zeitschr. Bd. LIX. S. 384—393, 415—424. 1909.

Erklärung der Figuren.

Tafel XXX.

Musa »Kladi«.

Sämtliche Figuren sind bei Vergrößerung von 1320 gezeichnet.

Fig. 1. Kern des jungen Archespors. Prochromosomen nicht sichtbar.

Fig. 2. Beginn des Leptonema-Stadiums im ausgewachsenen Archespor-Kern.

Fig. 3. Die synaptische Kontraktion des Leptonema nähert sich ihrem Höhepunkt.

Fig. 4. Sehr stark mit schwefelsaurem Eisenoxydammon differenzierter Archesporkern während des Synapsis-Beginns. Die Prochromosomen heben sich deutlich vom wenig tingierten Fadennetz ab.

Fig. 5. Pachynema-Stadium. Der Spiremfaden ist eingekerbt, bei *n* liegen kleine Nucleolen, die wohl als Excretstoffe zu deuten sind.

Fig. 6. Das pachytene Fadensystem lockert sich, stellenweise deutliche Längsspaltung in der Mitte (Strepsinema-Stadium).

Fig. 7. Angeschnittener Kern. Beginn der Diakinese. Bei *a*, *b*, *c*, *d* liegen einzelne Gemini.

Fig. 8 *a—d*. Heterotype Spindel: Anaphase; die Chromosomen sämtlich für den homöotypen Teilungsschritt längsgespalten. In den vier aufeinander folgenden Schnitten zählt man für jeden Tochterkern 24 Chromosomen.

Fig. 9 *a*, *b*. Heterotype Spindel. Asterstadium von einem Spindelpole her gesehen, die 24 Chromosomen wieder deutlich zu unterscheiden.

Fig. 10. Angeschnittene heterotype Spindel, welche die Multipolarität gut zeigt.

Fig. 11. Desgleichen, sämtliche Fasern in der Äquatorialebene mit einer ziemlich scharfen Knickung.

Fig. 12 u. 13. Telophasen der heterotypen Spindel, die Einzelchromosomen haben sich an den Spindelpolen zu Sondernuclei geformt.

Fig. 14. Homöotype Spindel angeschnitten, eigenartig gekrümmt.

Fig. 15. Interkinese. Die beiden Dyadenkerne sind nicht durch eine Zellwand von einander geschieden, außerdem noch vier Sonderkerne in der alten Äquatorialebene symmetrisch zu ersteren gelagert.

Fig. 16. Gänzlich unregelmäßige Anordnung der Kleinkerne nach beendigter Tetradenteilung. Die Grenzen der Tetraden sind durch dünne Plasmamembranen gekennzeichnet.

Fig. 17. Unregelmäßig versprengte Kerne. Sonderbare Anordnung der sich gegenseitig störenden Fasersysteme, die zur Bildung der Trennungswände angelegt sind.

Tafel XXXI.

Sämtliche Figuren sind bei Vergrößerung von 1320 gezeichnet.

Fig. 18. Große Pollen-»Tetrade« mit überzähligen Kernen und Zellen. Stellenweise sind noch die Fasern zu sehen, in deren Mitte sich die Zellwände anlegten. Die drei oberen Zellen gehören zur einen, die vier unteren zur andern Dyade. Auf den Nachbarschnitten traten noch weitere Tetradenabkömmlinge auf.

Musa »Dole«.

Fig. 19. Leptonema. Beginn der synaptischen Kontraktion.

Fig. 20. Synapsis. Der Pachynema-Faden deutlich durch Längsspaltung doppelt geworden.

Fig. 21 *a*, *b*. Ein Kern im Diakinese-Stadium. Man sieht außer den acht Geminipaaren noch einzelne von Hämatoxylin gefärbte Körner.

Fig. 22 *a*, *b*. Kern im Wachstum stärker zurückgeblieben. 7 + 1 Geminipaare, außerdem wieder Körnelungen, die sich aber von den Chromosomen durch ihre Form immer scharf scheiden und in den einzelnen Nuclei in sehr wechselnder Zahl — nach Zufall — durch den Farbstoff differenziert sind.

Fig. 23—25. Heterotype Spindeln in der Metakinese.

Fig. 26. Desgleichen zu Beginn der Anaphase. Einzelne Chromosomen durch das Messer weggerissen. Die Längsspaltung für den homöotypen Teilungsschritt ist sehr scharf ausgeprägt.

Fig. 27. Interkinese. In dem unteren Dyadenkern sind die acht Chromosomen noch völlig gesondert. Die obere Dyade hat sich nicht regelmäßig formen können. Zwei Sondernuclei und Sonderzellen sind aufgetreten.

Musa »Radjah Siam«.

Fig. 28. Synaptische Kontraktion des Leptonema nahezu auf dem Höhepunkt.

Fig. 29. Angeschnittene heterotype Spindel.

Fig. 30. Interkinese. Die beiden Dyaden völlig regelmäßig gebildet.

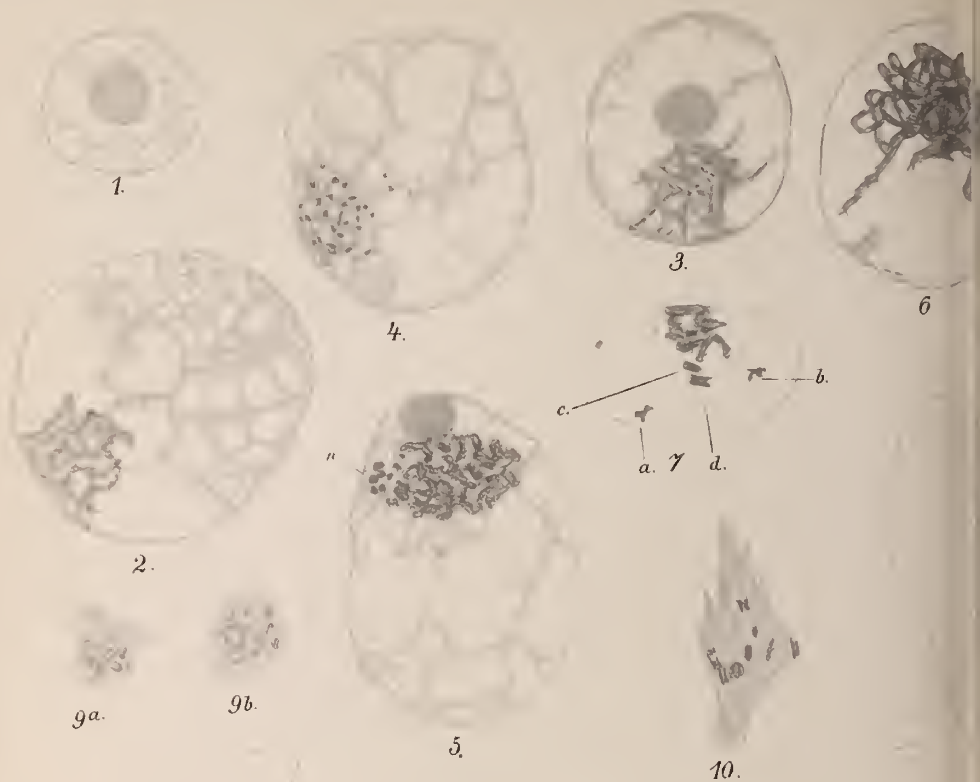
Fig. 31. Interkinese. Außer dem Hauptkern der Dyadocyte noch zwei Sonderkerne.

Fig. 32 *a*, *b*, Fig. 33 u. Fig. 34 *a*, *b*. Homöotype Spindeln, jede mit ihren 16 Chromosomen.

Fig. 35. Homöotype Spindel mit besonders kleinen Chromosomen.

Fig. 36. Pollen-»Tetrade« mit überzähligen Zellen, die fünf oberen gehören der einen, die drei unteren der andern Dyade an. Von den zugehörigen Kernen liegen zufällig nur drei im Schnitt.

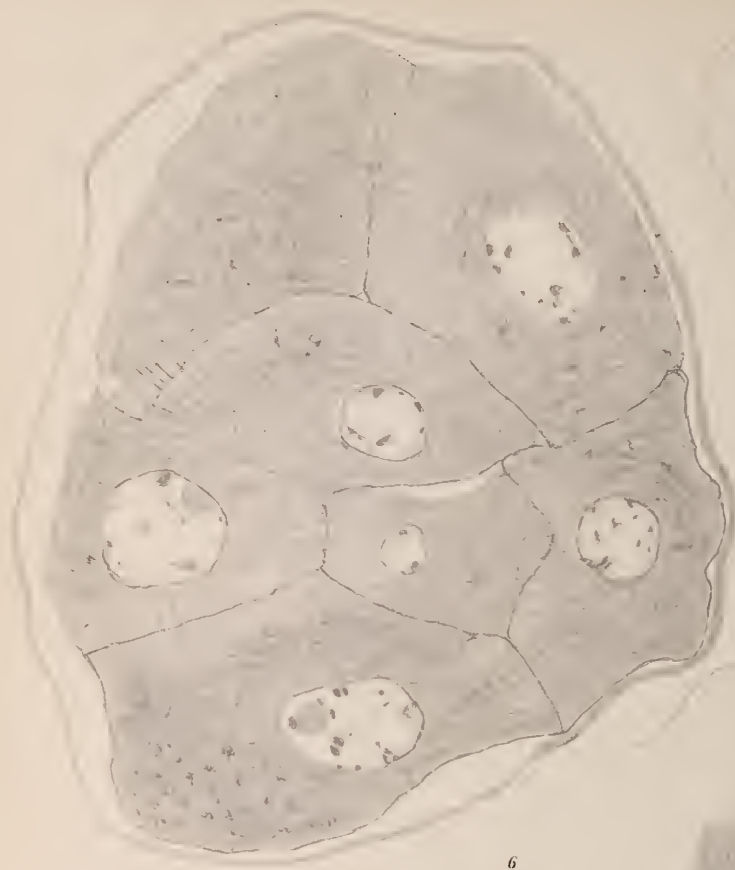



1.
2.
3.
4.
5.
6
7
a.
b.
c.
d.
9a.
9b.
10.
8a.
8b.
8c.

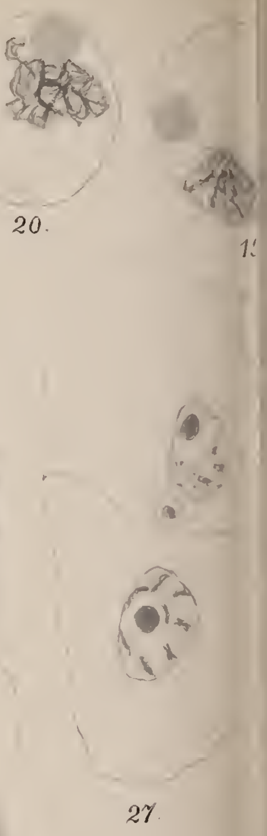


...nann, Leipzig.

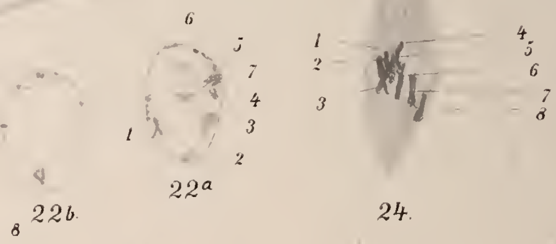
Lichtdruck v. C. G. Röder G. m. b. H., Leipzig.



18



20. 27.



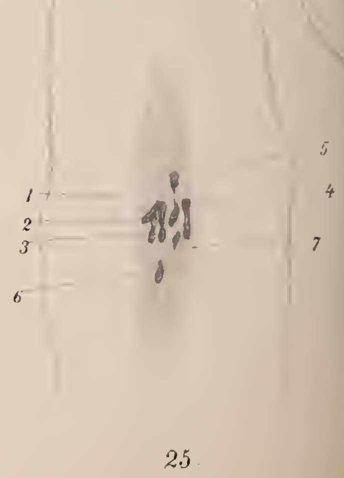
22b. 22a 24.



21a. 21b.



23.



25



nn Leipzig
Lichtdruck v. C. G. Röder G.m.b.H. Leipzig.

Referate.

REGAUD, CL. Etudes sur la structure des tubes seminifères et sur la spermatogénèse chez les Mammifères. In: Arch. Anat. Microsc. t. XI. fasc. 2, 3. p. 291—431. 4 Taf., 36 Textfig. 1910. (Fortsetzung von: Ibid. t. IV. p. 101 und t. IV. p. 231. 1901.)

Die Fortsetzung der langjährigen Untersuchungen REGAUDS über die Wirbeltierspermatogenese trägt zunächst in einem Supplement zu den früher publizierten Kapiteln 4 und 5 Beobachtungen über die Mitochondrien im Rattenhoden nach. Überall im Nährzellsyncytium, in Spermatogonien und Spermatocyten findet er sie, je nach Verschiedenheit des Stadiums in verschiedener Menge. Dabei ließen sich bei Anwendung verschiedener Fixationen zwei histochemisch zu trennende Sorten aufdecken, solche, die sich nur nach vorhergegangener Chrombehandlung mit Eisenhämatoxylin färben ließen (alle Mitochondrien in Auxocyten und Spermien und ein Teil in den Nährzellen) und solche, die ohne Chromisation sich färbten (ein Teil in den Nährzellen). Die lipoiden Substanzen, die sich zwischen den Nährzellkernen finden, sieht REGAUD als Umwandlungsprodukte der Mitochondrien an.

Der Hauptteil der Arbeit, dem eingehende Literaturangaben über die ganze Wirbeltierspermatogenese eingefügt sind, ist der eigentlichen Samenreifung gewidmet. Auf die letzte Spermatogonienteilung folgt eine völlige Auflösung der Chromosomen, der Kern wird von einer Menge Granula erfüllt. Die erneute Ausbildung der Chromosomen und damit die Anfänge einer Teilungsvorbereitung beginnt mit der Neigung der Körner, zu Fäden zusammenzufließen. Diese werden allmählich dicker, ihre Kontur zackig, sie legen sich alle der Kernmembran an, so daß nur wenig Schleifen den Kernraum durchkreuzen. Von einem Längsspalt ist, trotz der bedeutenden Dicke der Fäden, keine Spur zu entdecken; zu dieser Zeit — die Zelle ist natürlich schon gewachsen — vollzieht sich ein allmählicher Wechsel in der Farbreaktion der Chromosomen. In Präparaten, die mit Hämalaun-Safranin gefärbt wurden, färbt das Chromatin der jungen Auxocyten sich violett (Hämalaun), die größeren Zellen, deren Chromosomen schon weit voneinander liegen, nehmen nur das Safranin an. Dazwischen finden sich entsprechend dem Alter der Zellen alle Schattierungen. Dieser Wechsel, der übrigens ein recht allgemeiner ist, wird von REGAUD auf Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung zurückgeführt. Es fehlt also ein richtiges leptotänes Stadium, ganz allmählich werden die Fäden dicker, es fehlt der Längsspalt, eine polare Orientierung der Schleifen und alle Bilder, die für ein Aneinanderlegen paralleler Fäden sprechen könnten, lauter Stadien, die VON WINIWARTER und SAINTMONT (1908) für die Katze beschrieben haben. REGAUD möchte deswegen ihre Existenz bei der Katze nicht in Zweifel setzen, ist aber von der Richtigkeit seiner Darstellung für die Ratte ebenso

überzeugt, zumal auch die DUESBERGschen Resultate (1907, 1908) in den wichtigen Zügen sich mit den seinen decken. »De ce que des particularités structurelles sont très apparentes, il ne faut pas déduire qu'elles sont très importantes« schreibt hier der Verfasser.

Die übrigen Kerneinschlüsse der Spermatocyten 1. Ord. sind etwas komplizierter Natur. Wir müssen safranophile Körper, LENHOSSÉKsche Körper und Nucleolen auseinanderhalten. Die ersteren liegen stets an der Membran, im Gegensatz zu den Chromosomenfäden ist ihre Oberfläche stets glatt, ihre Form linsen- oder bandförmig. Sie stellen differenzierte Stücke der Chromosomen dar und eine selektive Färbung mit Safranin und andern Farben zeigt deutlich, wie sie sich an diesen teils am Ende, teils in der Mitte eines Fadens herausbilden. Ein Kern kann 1—5 solcher Körper enthalten, gewöhnlich handelt es sich um 2—3.

Die streng sphärischen, stets safranophilen Nucleolen liegen nie an der Membran und sind völlig von den Chromosomen unabhängig. In ihnen sind nach REGAUD die Endprodukte der safranophilen Körper zu sehen (ob man in diesem merkwürdigen Vorgang einer intranuclearen Substanzabgabe der Tetraden vor der ersten Reifeteilung einen Ersatz für das hier fehlende Bukettstadium und die gleichzeitige Chromatinemission sehen darf?).

Der Körper, den LENHOSSÉK 1898 zuerst beschrieben, unterscheidet sich von den bisherigen Gebilden vor allem durch eine breite Vacuole, durch die er — stets an der Membran linsenförmig gelegen — vom übrigen Kerninhalt deutlich getrennt wird; meist ist er in der Einzahl vorhanden; teils hämateinophil, teils safranophil (Wandlungen, die ja auch die Chromosomen erleiden), gelegentlich aus zwei verschieden reagierenden Teilen zusammengesetzt, bleibt er bis zur Auflösung der Kernmembran erhalten, zu dieser Zeit immer safranophil, wie die Chromosomen. Bezüglich seiner Bedeutung besitzen wir noch keine Klarheit. HERMANN hatte ihn für einen Nucleolus gehalten, LENHOSSÉK hatte erkannt, daß er damit nichts zu tun hat, LA VALETTE ST. GEORGE (1898) spricht von einem »Chromosom«, SCHOENFELD (1900, 1901) findet Analoges beim Stier, VAN MOLLE (1907) beim Eichhörnchen, VON WINIWARTER und SAINTMONT (1909) beschreiben bei der Katze einen ähnlichen Körper, der sich deutlich als Chromosom offenbart und von ihnen auch in die Reihe der Heterochromosomen gestellt wird. REGAUD erörtert nicht, inwieweit die vorliegenden Körper hierzu Beziehungen besitzen. Mir persönlich erscheint die Wahrscheinlichkeit, daß der LENHOSSÉKsche Körper ein Heterochromosom darstellt, nicht gering. Schon die Form, die Lage und die vom übrigen Kernraum trennende Vacuole begegnen uns bei Heterochromosomen. Weiterhin schleppt in der Anaphase der ersten Reifeteilung ein Chromosom häufig beträchtlich nach, wie dies Heterochromosomen tun, und findet sich in den Spermatocyten 2. Ordnung in jeder von zwei zusammengehörigen Tochterzellen der typische LENHOSSÉKsche Körper mit dem Vacuolenhof wieder in einer so symmetrischen Stellung, daß eine vorangegangene Teilung anzunehmen nahe liegt. Über das eventuelle Verhalten während der zweiten Reifeteilung ist aus REGAUDs Darstellung allerdings nichts zu ermitteln.

Erst sehr spät tritt der Längsspalt der Autosomen aus, auf den eine quere Segmentierung folgt (wie bei DUESBERG). Die auch hier wiederkehrenden Ringe, 8-Figuren, Hufeisen bilden sich nach REGAUD durch ein Auseinanderweichen dieser Spaltprodukte, je nachdem sie nur an einem oder an beiden Enden inniger verklebt sind. Hier wird sich REGAUD gefallen lassen müssen, daß mancher ein verschiedenstarkes Umbiegen längsgespaltener Fäden für wahrscheinlicher hält; auch seine Meinung, daß zu dieser

Zeit nicht allein eine Verdichtung des Chromatins zu den definitiven Tetraden führt, sondern ein Zunehmen an Volumen, wird auf gegenteilige Ansichten stoßen. In Sachen der Parallelkonjugation schreibt er: «il n'y a pas le moindre trace, chez cet animal, de conjugaison parallèle de filaments chromatiques, à aucun moment. Il n'y a pas d'orientation du contenu nucléaire par rapport à l'idiozome et aux diplocentres: donc pas de synapsis typique, pas de parallélisme des anses du peloton, pas d'apparence de conjugaison parallèle». Es ist recht lehrreich, diese bestimmten Äußerungen über ein jahrelang studiertes Objekt mit denen zu vergleichen, die ein andrer vorzüglicher Kenner von Wirbeltierkeimzellen über die gleiche Frage in diesem Jahr getan hat (siehe das Zitat in dem Ref. über J. Marechal et A. de Saedeleer in diesem Heft!).

Während Duesberg in der ersten Reifeteilung nach dem Längsspalt teilen läßt, meint Regaud, daß die definitive Tetrade die Grenzen ihrer Komponenten völlig verloren hat und damit die Frage nach einer Teilungsrichtung überhaupt hinfällig wird. Die zweite Teilung ist nach Duesberg abermals eine Längsspaltung, nach Regaud eine quere.

P. Buchner (München).

Wieman, H. L. The Pole Disc of Chrysomelid Eggs. In: Biol. Bulletin. Vol. XIII. p. 180—187. 6 Fig. 1910.

Daß die Keimbahn im Plasma begleitende chromidiale Substanzen von dem Kern einer fremden Nährzelle stammen, habe ich vor kurzem an einem in dieser Hinsicht ganz extremen und unzweideutigen Fall (*Sagitta*) nachzuweisen Gelegenheit gehabt (1910). Ich habe teils richtige, teils mißverstandene Angaben der älteren Literatur zum Beleg eines ähnlichen Vorganges angeführt und die Meinung ausgesprochen, daß ein derartiger »trophogamer Modus der Kernbahnbestimmung« eine fast ebenso weite Verbreitung besitzt, wie die trophischen Einrichtungen fremdzelliger Art, die dem ganzen Ei in einheitlicher Weise zukommen. Auch für die in die »Polzellen« der Insekten eingehenden chromidialen Substanzen, die die Form von Kugeln, Brocken oder Granulawolken besitzen können, habe ich das postuliert, obwohl positive Angaben hierüber mir fehlten.

Daß aber neben diesem »Fressen« der ganzen Zelle auch lediglich Secretionsvorgänge einer einzelnen Nährzelle oder einer Gruppe von solchen das nötige keimbahnbegleitende Granulamaterial liefern können, war dabei von vornherein wahrscheinlich. Gehen ja auch bei der Gesamternährung des Eies beide Modi nebeneinander her und ineinander über. Wieman bestätigt diese Vermutung für die polare Körnchenscheibe der Chrysomeliden. Die Ernährung des Eies geschieht von einer Endkammer aus, von der je ein Strang körnerbeladen zu einer Eizelle führt; hier umgreifen auf jungen Stadien die fremdzelligen Körner zunächst den Kern, auf einem etwas späteren Stadium ändert der Strom sich derart, daß in der Mitte des Eies eine Zone auf Kosten der Körner neu gebildeten Dotters liegt, die er nun von allen Seiten umgreift. Die Polscheibe erscheint erst sehr spät und stellt eine Granularegion dar, die die Umwandlung in Dotter unterlassen hat und eine basische Reaktion beibehalten haben. Wenn Wieman für einen Austritt aller Granula, also auch dieser keimbahnbestimmenden aus dem Kerne der Nährzellen eingenommen ist, so hat er hier eine Reihe neuerer Untersucher von Nährzelleneinrichtungen auf seiner Seite (vgl. mein Ref. über Günthert in diesem Heft; oder Enzio Reuter, Über die Eibildung bei *Pediculopsis*, Festschrift f. Palmén,

1907). Damit bleiben aber auch für diesen Fall die prinzipiellen Faktoren einer trophogamen Keimbahnbestimmung, die Versorgung des Keimplasmas mit zellfremdem chromatischem Material, aufrecht erhalten.

P. Buchner (München).

Günthert, Th. Die Eibildung der Dytisciden. In: Zoolog. Jahrb. Abt. Anat. u. Entw. Bd. XXX. S. 301—372. 7 Taf. 1910.

Die Untersuchung stellt in allen wichtigen Punkten eine vollkommene Bestätigung der Giardinaschen Angaben (1901) über die cytologischen Differenzierungsvorgänge im *Dytiscus*-Ovar dar. Günthert vermehrt aber unsre Kenntnis dieses merkwürdigen Erscheinungskomplexes auch noch um eine Reihe Details, wie dies auch schon durch eine frühere Nachuntersuchung von Debaisieux geschah, die dem Verfasser entging (vgl. Ref. in Bd. V, S. 170 des Archivs). Schon aus den alten Angaben von Will, dem Lehrer Güntherts, war zu entnehmen, daß bei *Colymbetes* ganz ähnliche Dinge vorliegen; Güntherts Verdienst ist es, dies nun für alle Dytisciden festgelegt zu haben. Er hat bei *Dytiscus marginalis, Dytiscus latissimus, Acilius, Colymbetes fuscus, Colymbetes notatus* prinzipiell gleiche Differenzialmitosen gefunden. Die mitgeteilten Tatsachen beziehen sich nur auf *Colymbetes* und *Dytiscus*. Im Gegensatz zu Debaisieux findet der Verfasser in den normalen Ovogonienteilungen den trophochromatischen Körper noch nicht. Bezüglich seiner Herausbildung vor der ersten Differenzialmitose aber vermag er für beide Tiere interessante Details zu geben, ohne daß durch dieselben die hierbei gemachten Giardinaschen Einwände gegen die Individualitätshypothese der Chromosomen gestützt würden. Sie erhält nach Güntherts Ansicht sogar eine wichtige Stütze durch die Erscheinungen der Differenzialmitosen.

Das Studium der Nährzellrosette ließ ihre wichtige secretorische Funktion für das Ei besonders eindeutig erkennen. Die Giardinaschen Tetraden in den Nährzellen werden wieder beschrieben und zwar — wie von Giardina — in der Normalzahl der Species. Sie scheinen im Zusammenhang mit der Kernsecretion zu entstehen, denn der Zerfall eines Kornes in vier ist der periodisch sich wiederholende Modus der enormen Granulavermehrung, die in den Kernen statthat. Von einem endlichen Austritt dieser ins Plasma konnte sich der Verfasser mit Sicherheit überzeugen. Daß aber die Emission so vor sich geht, wie Günthert es schildert, kann der Ref. nicht glauben. Eine Reihe von Pseudotetraden liegen unmittelbar unter der Kernmembran. Diese wird zu Faserzügen, die den Kern rings umziehen und eine neue Membran wird so gebildet, daß die zwei distalen Granula der Tetrade in dem neuen Territorium des Plasmas liegen, die zwei proximalen hinter der neuen Kernmembran. Durch eine häufige Wiederholung dieses Prozesses erklärt sich in den Augen des Verf. das Vorhandensein einer konzentrisch geschichteten Plasmazone um den Nährzellkern und eine zu beobachtende Fortsetzung des Liningerüstes in radiale Faserzüge im Plasma. Die Schichtung der perinucleären Zone dürfte aber doch durch einen ruckweisen Secretionsvorgang allein schon genügend zu erklären sein.

Sicher ist, daß die auf irgendwelche Weise ins Plasma gelangten Chromidien nun, während sie langsam ihre chromatische Färbbarkeit in eine plasmatische wandeln, längs eines Faserbündels von jeder Nährzelle in die eine Eizelle wandern. Günthert konnte dieses Strömen sogar an lebenden Ovarien sehen. Bei *Colymbetes* ist diese Secretion eine viel stärkere als bei *Dytiscus*. Die einzelnen »Nährströme« vereinigen sich — besonders auf jüngeren Stadien — in einem Punkt des Eies, an dem sich dann

die fremdzelligen Substanzen zu einem nebenkernähnlichen Klumpen stauen. Recht merkwürdig ist, daß dies genau an der Stelle des lange persistierenden Spindelrestkörpers ist, und daß dieser zunächst völlig imprägniert wird. Ich habe auf diese Affinität schon wiederholt hingewiesen; das Gleiten des Chromidiums in der faserig differenzierten Nährbahn gehört in das gleiche Kapitel und läßt merkwürdige Parallelen zum Verhalten des Chromidiums bei der Mitose (Giglio-Tos, Gérard usw.) erkennen.

In einem Anhang bespricht Günthert meine Angaben über Differentialmitosen im Gryllenovar (1909). Er glaubt, daß es sich hier um völlig gleiche Vorgänge handle, wie bei *Dytiscus*, mir aber nur pathologisches Material vorgelegen habe und meine Figuren also abnorme Zustände wiedergeben. Das muß aber doch als ein etwas zu gewaltsamer Versuch angesehen werden, die Dinge über einen Leisten zu schlagen. Eine prinzipielle Übereinstimmung beider Vorgänge besteht sicherlich, aber es wird doch mit zwei verschiedenen Mitteln, d. h. Körpern, das Ziel erreicht. Günthert hätte wohl besser getan, sich etwas mehr mit der Heterochromosomennatur des *Gryllus*-Körpers vertraut zu machen, als das Ungleiche in beiden Fällen mit dem Wort »pathologisch« zu beseitigen. Die Ovarien waren sehr jungen, noch lange nicht ausmetamorphosierten Tieren von ganz verschiedenen Lokalitäten entnommen und es lag keinerlei Grund zu abnormen Erscheinungen vor. Wo kommen wir hin, wenn neben den bequemen Schlagwörtern: »schlecht fixiert«, »Kunstprodukt« usw. auch noch »pathologisch« sich einbürgert?

P. Buchner (München).

J. Marechal et A. de Saedeleer. Le premier développement de l'ovocyte I chez les Rajides. In: La Cellule. t. XXVI. p. 5—24. 1 pl. 1910.

Nach den letzten Ovogonienteilungen machen die jungen Spermatocyten eine Ruheperiode durch (repos initial ovocytaire, repos postovogonial, repos présynaptique), für deren Vorkommen bei den Squaliden der eine der Verf. schon eingetreten war. Wie dort erinnert das Chromatin der in dieser Zeit in Einestern beisammenliegenden Ovocyten durch seine polare Anordnung noch an die Telophase der vorangegangenen Ovogonienteilung. Mit dem Wachstum der Eizelle beginnt eine Auflösung desselben in ein Reticulum und dieses erleidet aufs neue eine polare Orientierung, die während ihres Höhepunktes in einem synaptisch kontrahierten Bukettstadium besteht. Aus der schon im Reticulum bemerkbaren Tendenz einzelner Fäden zu einer parallelen Annäherung hat sich dabei der Prozeß der Parasyndese entwickelt. »Nous exprimons cette proposition d'une manière absolue, comme la traduction d'un fait, tant soit nombreux, durant l'étape synaptique ascendante, les indices d'accolement longitudinal« schreiben die Verf. mit großer Bestimmtheit. Es folgen kontinuierlich die pachytänen und diplotänen Kerne: die Vorgänge verlaufen demnach interessanterweise völlig gleich in beiden Gruppen der Selachier. Dies bezieht sich auch auf das Erhaltenbleiben der Chromosomen im Laufe der großen Wachstumsperiode des Eies.

Die Verf. betonen ferner, daß es keineswegs die Regel ist, daß ein Kern völlig leptotän, zygotän, pachytän usw. ist; die leptotänen Kerne können teilweise noch reticulär sein, oder es kann pachytäne Abschnitte in ihnen geben. Die Charaktere des pachytänen und diplotänen Zustandes endlich vermögen ganz durcheinandergewürfelt vorzukommen. Ganz selten findet man selbst isolierte Elemente, die offenbar der Parasyndese völlig entgangen sind.

Die Synapsis ist ein natürlicher Vorgang, der wohl durch die Fixationsmittel noch besonders betont wird, sicher aber mit der Parallelkonjugation in engster Beziehung steht.

P. Buchner (München).

Lepeschkin, H. D. Über einen neuen Verteter des Wurmtypus mit vier Chromosomen (*Vortex viridis*). (Cytologische Beobachtungen.) In: Biologische Zeitschrift. Bd. I. S. 1—13. 1 Taf. Moskau 1910 (Russisch[1]).)

In somatischen Zellen wie in Spermatogonien von *Vortex* vermochte der Verf. sieben Chromosomen zu zählen und zwar ein Paar mit größeren und eines mit kleineren Komponenten. Er unterscheidet zwei Typen von Spermatogonien, kleine mit spärlichem Plasma, große mit reichlichem. Wenn man diese, wie sonst, für alte und junge erklärt, ist eine Wachstumsperiode während eines einheitlichen Knäuelstadiums zu verzeichnen. Der Knäuel zerfällt in zwei Segmente, die zu merkwürdig gegabelten Tetraden werden; diese sind nicht, wie zu erwarten, durch Konjugation der homologen Chromosomen entstanden, sondern setzen sich aus dem größten und kleinsten einerseits und den beiden mittleren andrerseits zusammen. In der ersten Reifeteilung verklebt die chromatische Substanz zu einem Stäbchen, so daß nur abnorme Zellen in den Anaphasen die Zweiteiligkeit der Teilprodukte erkennen lassen, die gewöhnlich erst in den Spermatocyten zweiter Ordnung wieder zum Vorschein kommt. Während der zweiten Reifeteilungen kann man nun zwei Typen von Spermatocyten unterscheiden, 1) solche mit einem großen und einem kleinen Element, 2) solche mit zwei mittelgroßen. Beide verschmelzen aber auch hier noch während der Mitose, die diesen Körper quer teilt.

»Die Längendifferenz der Chromosomen wird mit dem Hermaphroditismus in Verbindung gebracht.«

P. Buchner (München).

Goldschmidt, R. Das Problem der Geschlechtsbestimmung. In: Die Umschau. Jahrg. XVI. Nr. 11. S. 201—205. 1910.

In einem über dieses Thema gehaltenen Vortrage in der Senkenbergischen Naturforschenden Gesellschaft zu Frankfurt spricht sich Goldschmidt über die Bedeutung der Heterochromosomen bei der Geschlechtsbestimmung aus. Er hält an seiner 1904 schon geäußerten und in der Zwischenzeit auch von andrer Seite weiter gestützten Ansicht fest, daß die Sonderchromosomen im Gegensatz zu den Autosomen trophisches Chromatin darstellen. Die ablehnende Haltung bezüglich ihres Zusammenhanges mit der Geschlechtsbestimmung hat er jedoch angesichts der neuen Beobachtungen aufgegeben und schreibt ihnen nun hierbei einen unmittelbaren Einfluß zu. Die Eier, in denen mit dem Moment der Befruchtung zwei Heterochromosomen enthalten sind, sind zu höheren Stoffwechselleistungen befähigt, als die mit nur einem. Damit bekäme der Begriff «Kümmerform» für das männliche Geschlecht eine allgemeine cytologische Basis. Dinge wie die Lezithinexperimente von Russo und ähnliches würden diese Hypothese stützen, die in der Geschlechtsbestimmung einen quantitativen Vorgang

[1]) Inhaltsangabe nach der deutschen Zusammenfassung.

sieht, derart, daß »die größere oder geringere Anwesenheit einer nicht specifisch wirksamen, sondern die gesamte Energieleistung des Organismus beeinflussenden Substanz über das Geschlecht entscheidet«.

P. Buchner (München).

Herwerden, M. A. van. Über die Kernstruktur in der Speicheldrüse der *Chironomus*-Larve. In: Anat. Anz. Bd. XXXVI. S. 193—207. 1 Taf. 1910.

Balbiani hatte, als er zum ersten Male den merkwürdigen Bau der Speicheldrüsenkerne der Chironomidenlarven beschrieb, diese als einen starkgewundenen Faden dargestellt, der aus einzelnen Scheiben von abwechselnd dichter und mehr flüssiger Substanz zusammengesetzt ist und mit einem oder zwei Nucleolen in direktem Zusammenhang steht. Korschelt stellte das später in Abrede und erklärte den Kernfaden für einheitlich, aber derart gefaltet, daß, je nachdem man auf die Erhöhung oder Vertiefung einstellt, die nächste Partie in einem andern, dunklen bzw. hellen Lichte erscheint und so zwei Substanzen vorgetäuscht werden. Van Herwerdens Befunde nehmen eine Mittelstellung ein: Der Faden baut sich wohl aus zwei Substanzen auf, aber beide sind unter sich kontinuierlich. Sowohl im Leben als auch auf dem Schnitt konnte er beobachten, daß ein achromatischer starker Faden von einem chromatischen, dünnen spiralig umzogen wird. Die dunklen Scheiben Balbianis, die dunklen Teile der Faltungen Korschelts stellen die oberflächlichen Windungen dieses Spiralfadens dar, die »Zwischenscheiben von weicher Substanz« den zwischen den Windungen hervortretenden Innenkörper.

Der Verf. will nun auch die ganz ähnlichen Strukturen, die von Baranetzky in Pollenmutterzellkernen von *Tradescantia* gefunden wurden, so aufgefaßt wissen. Ebenso erinnert ihn Bonnevie sofort an seine Beobachtung, wenn sie von den Chromosomen der Telophase bei *Ascaris* schreibt, daß die chromatische Substanz sich hierbei auf den erhabenen spiraligen Leisten der Oberfläche ansammelt, so daß bald eine chromatische Spirale von der Spitze jedes Chromosoms bis zur Wurzel kontinuierlich verläuft. »Gleichzeitig mit dieser Lokalisierung der Chromatinsubstanz kommt zwischen den Windungen der Spiralleiste die früher im Innern des Chromosoms verborgene achromatische Substanz zum Vorschein.« Mit ihr meint er, daß eine derartige Fernstruktur eine weitgehende Verbreitung besitzt und glaubt, daß sie in den Chironomiden- und andern Arthropodenlarven am schönsten zu finden ist, wo sie nicht nur als ein vorübergehender Zustand im Zusammenhang mit der Mitose, sondern als ein dauernder angetroffen wird.

Die auch in den neuesten Lehrbüchern immer wieder reproduzierte Figur Balbianis wird dieser Darstellung gegenüber nun wohl einer zutreffenderen weichen müssen.

P. Buchner (München).

Stevens, N. M. The Chromosomes in the Germ-cells of *Culex*. In: Journ. of exper. Zool. Vol. VIII. p. 207—225 u. 57 Fig. 1910.

Im Hoden wie im Ovar der Tiere sind drei Chromosomenpaare zu finden, die — zwei von ihnen etwa gleich lang, eines etwas kürzer — bereits in jeder Prophase und Metaphase der Vermehrungsteilungen[1]) sich der Länge nach aneinanderlegen.

[1]) Bei Musciden wurde der gleiche Vorgang bei Mitosen des Follikelepithels beobachtet.

Auch die Tetraden der Spermato- und Ovocyten kommen auf solche Weise wohl in der Telophase schon zustande. Während einer ausgesprochenen synaptischen Verklumpung werden chemische Veränderungen an dem Nucleolus beobachtet, die durch eine für den Reifevorgang wichtige intranucleäre Chromatinabgabe der Chromosomen an denselben erklärt und mit dem sonst beschriebenen gleichzeitigen Chromidialaustritt in Zusammenhang gebracht werden.

Der Längsspalt des Spirems, der bisher meist nicht zu sehen war, wird mit der nun einsetzenden Kondensierung wieder sehr deutlich. Für gewöhnlich zeigt keine der Tetraden etwas an Heterochromosomen Erinnerndes. Nur Abnormitäten gestatten den Schluß, daß das kleine Paar gewisse Eigenschaften derselben birgt. So fand Miss Stevens am 22. November unter einer Eisdecke Larven, deren Zellen und Chromosomen kleiner als gewöhnlich waren und bei denen das kleine Paar in der Kondensation bedeutend vorgeschritten war. Ein andermal saßen demselben Paar zwei kleine Nucleoli an, so daß ein Bild entstand, das an die Heterochromosomen der Musciden erinnert. Beim normalen Verlauf der Samenbildung aber läßt sich nicht von Heterochromosomen reden, solange wir die bisherige Definitive gelten lassen. Die Verhältnisse bei *Culex* weisen nach Stevens aber darauf hin, daß in solchen Fällen doch Sonderchromosomen vorhanden sein können, die mit einem zweiten Chromosomenpaar derart kombiniert sind, daß keine Größendifferenzen zur Beobachtung kommen können und durch deren Einfluß auch die specifischen Eigenschaften in der Wachstumsperiode unterdrückt werden.

P. Buchner (München).

Stevens, N. M. An unequal pair of heterochromosomes in *Forficula.* In: Journ. of exper. Zool. Vol. VIII. p. 227—241. 48 Fig. 1910.

Zweiger hatte in den Spermatogonien von *Forficula* eine wechselnde Chromosomenzahl (24—26) gefunden und in den Spermatocyten entsprechende Variationen der Tetradenzahlen. Auf solche Weise entstanden gelegentlich nicht zwei, sondern mehr Spermiensorten.

Stevens findet nun 24 Chromosomen in den Spermatogonien, zwölf in den ersten Spermatocyten, zwölf meist auch in denen zweiter Ordnung; hier aber kommen auch die Zahlen 11 und 13 vor. In den ersten Spermatocyten ist stets ein ungleiches Heterochromosomenpaar vorhanden, das ungleiche Spermien herbeiführt. Das, was Zweiger als accessorisches Chromosom beschrieben hat, scheint ihr auf einer gelegentlichen verfrühten Teilung des kleineren Sonderchromosomes zu beruhen, durch die dann die unregelmäßigen Zahlen in den zweiten Spermatocyten bewirkt werden.

P. Buchner (München).

Leplat, Georges. La spermiogenèse chez le chat (*Felix catus domesticus*). In: Arch. Biolog. t. XXV. p. 401—426. 1 pl. 1910.

Das Idiozom der jungen Spermatide besteht aus drei sich in der Folge verschieden verhaltenden Abschnitten: einer peripheren Zone mit Eisenhämatoxylin stark färbbarer Granula und einem blassen sphärischen Gebilde, das in sich ein excentrisch in der Nähe der Kernmembran gelegenes Korn birgt. Auf frühen Stadien begegnen Bilder, die den hellen Abschnitt in zwei oder drei Bläschen zerfallen zeigen, von denen jedes sein eignes, entsprechend kleineres excentrisches Korn besitzt. Erst wenn diese verschmolzen sind, verliert das Idiozom die sphärische Gestalt und schmiegt sich so eng an den Kern

an, daß jener an dieser Stelle beträchtlich eingedrückt wird. Das Korn verbindet sich dabei innig mit der Kernmembran und bleibt so — dem Akrosom Lenhossèks homolog — noch lange sichtbar, wenn die übrigen Komponenten des Idiozoms weitgehende Umwandlungen erlitten haben. Der granulierte Teil macht sich selbständig, wird kugelig und wandert nach rückwärts in die Gegend der Centriolen, wo er nur sehr allmählig resorbiert zu werden scheint. Die hyaline Kalotte aber verflacht sich immer mehr und überzieht endlich — kaum mehr sichtbar, die vordere Hemisphäre des noch runden Kernes.

Am entgegengesetzten Pol war schon lange nahe der Zellperipherie ein Centriolenpaar zu finden, das senkrecht zu dieser steht. Das distale vermag einen extracellulären Faden zu bilden, der sich, wenn die Centriolen jetzt kernwärts wandern, in einen intracellulären Teil fortsetzt. Das sind die Vorgänge, die in die erste Periode des Verf. fallen. In der zweiten bildet sich die Schwanzmanschette aus und teilt sich das distale Centriol in einen Ring und ein Korn, an das der Faden, nun durch den Ring ziehend, nach wie vor ansetzt. Die rätselhafte Manschette entsteht ganz plötzlich, umgreift anfangs den Äquator des Kernes, verengert und verlängert sich aber allmählich beträchtlich um die Centralkörper und den Schwanzfaden. Gleichzeitig wird der Kern homogen, reduziert sein Volumen bedeutend und nimmt endlich die Form etwa eines Meißels mit abgerundeten Ecken an. Akrosom und Kern sind erst jetzt bis zur Unkenntlichkeit miteinander verschmolzen.

Die dritte Periode läßt die Manschette ebenso plötzlich verschwinden, wie bei *Cavia* oder *Mus*; der distale Ring wandert rückwärts bis an die Grenze des Plasmaleibs.

Mitochondrien sind wie in den Sertolischen Zellen, so auch in Spermatogonien und Spermatocyten zu finden. In ersteren zeigen sie eine Affinität zum Idiozom und umhüllen dies gelegentlich völlig; in letzteren steigt ihre Masse, nach des Verf. Meinung aber nicht auf Kosten von Kernsubstanz, sondern lediglich parallel dem Anwachsen der ganzen Zelle. Auch in den Spermatiden anfangs diffus verteilt, zeigen sie nach beendeter Rückwanderung des Ringes die Neigung, sich dem Fadenabschnitt zwischen Ring und Kern anzulegen[1]). Offenbar vom Kern aus beginnend, gruppieren sich die Granula zu je zweien, die zu queren Scheibchen zusammenfließen, ohne je wie bei andern Wirbeltieren eine Spirale darzustellen. Wenn endlich auch die hintereinander gelegenen Scheiben sich zu einem homogenen Stabe vereinigt haben, ist das Mittelstück des Spermiums fertig.

P. Buchner (München).

Stauffacher, H. Beiträge zur Kenntnis der Kernstrukturen. In: Z. wiss. Zool. Bd. XCV. S. 1—120. 2 Taf. 1910.

Der Verfasser, der schon 1903 einmal die Aufmerksamkeit auf unmittelbare Verbindungen zwischen Kern und Plasma zu lenken versucht hatte, tut dies jetzt mit viel größerem Nachdruck an der Hand eines reichen tierischen und pflanzlichen Materials von neuem. An pflanzlichen Objekten allein zählt er 36 Formen auf, die er studiert und an denen er immer wieder seine »Kernbrücken« zu Gesicht bekommt. Zwischen zwei basichromatischen Körperchen, die unmittelbar an der Kernperipherie

[1]) Dabei wurde die interessante Abnormität beobachtet, daß der Ring seine Wanderung nicht vollendet hatte. In dem Falle bestand die Affinität von Mitochondrien und Faden nur längs dem Fadenstück, an dem der Ring vorbeigeglitten war! Der Rest des intracellulären Fadens blieb völlig frei.

liegen, zieht eine oxychromatische Straße in das Plasma und endigt auch hier mit einem chromatischen Korn. Solche Verbindungen bestehen aber auch innerhalb des Kernes zwischen der oxychromatischen Substanz des Nucleolus und des Kernes. Das Basichromatin entsteht in den Nucleolen aus oxychromatischem Material, wandert auf den inneren Kernbrücken in den Nucleus, von da auf den äußeren in das Plasma. Eine Kernmembran existiert nirgends. Die auf solche Weise ins Plasma gelangten zahlreichen Mikrosomen sollen bei der Teilung noch eine prinzipielle Rolle spielen, indem sie durch allmählige Vereinigung an den beiden Polen die beiden Centren bilden. Da Stauffacher also in diesen Körnchenansammlungen an den beiden Teilungspolen keine sekundären Wanderungen unter dem Einfluß eines sichtbaren oder unsichtbaren Centriols sieht, wie es die meisten Leser auf Grund vieler ähnlicher Angaben tun werden, kommt er zu dem allgemeinen Schluß, daß der ursprüngliche Zustand der sich teilenden Zelle nicht bipolar, sondern multipolar ist.

P. Buchner (München).

Knoll, W. Bestehen direkte, mit unsern heutigen Hilfsmitteln darstellbare Verbindungen zwischen Kern und Cytoplasma? — Ein Beitrag zur Morphologie und Physiologie der polymorphkernigen Leukocyten im strömenden Blut und im roten Knochenmark des Menschen. In: Z. f. w. Z. Bd. XCV. S. 121—190. 1 Taf. 1910.

Durch seinen Freund Stauffacher auf dessen im vorstehenden Referat besprochene »Kernbrücken« aufmerksam gemacht, hat Knoll menschliche Leukocyten nach den gleichen Strukturen durchsucht und dieselben hier und in andern Objekten, besonders Pflanzenzellen — allerdings nach 6 monatlichem vergeblichem Bemühen — aufgefunden. Im Leben wie im gefärbten Präparat konnte er jene »Verbindungen zwischen dem achromatischen Karyomitom und dem schwach basophil färbbaren Cytomitom unter Vermittlung stark basisch tingibler, großer Plasmosomen« an den Leukocyten beobachten. Diese Gebilde gehören nach seiner Meinung zu den stabilsten Elementen der Kern- und Plasmastrukturen des ruhenden Kernes. Infolge dieser ständigen innigen Verbindung zwischen Kern und Plasma kann der Verf. sich auch die Wanderungen des ersteren in der Zelle nicht als rein passive, der Kontraktilität des Plasmas gehorchende vorstellen, wie dies Heidenhain sich denkt, sondern als eine elastische Zug- und Gegenzugwirkung. »Der innere Aufbau der lebenden Leukocyten ist sowohl im Cytoplasma als im Kern während der Bewegung Umlagerungen der Bestandteile ausgesetzt, die man im Sinne einer aktiven Bewegung beider Anteile im Zusammenhang miteinander deuten kann.« — Eine den herrschenden Anschauungen entsprechende Kernmembran findet der Verf. bei seinem Objekte nirgends.

P. Buchner (München).

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



FÜNFTER BAND
ERSTES HEFT
MIT 37 TEXTFIGUREN UND 12 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 31. MAI 1910

LEIPZIG
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1910

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Privatdozent Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar M 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT
PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



FÜNFTER BAND
ZWEITES HEFT
MIT 28 TEXTFIGUREN UND 8 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 2. AUGUST 1910

LEIPZIG
VERLAG VON WILHELM ENGELMANN
1910

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Privatdozent Dr. **R. Goldschmidt**, Zoologisches Institut, **München**, Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar ℳ 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

ARCHIV
FÜR
ZELLFORSCHUNG

HERAUSGEGEBEN

VON

DR. RICHARD GOLDSCHMIDT

PROFESSOR AN DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN



FÜNFTER BAND

VIERTES HEFT

MIT 23 TEXTFIGUREN UND 7 TAFELN

AUSGEGEBEN AM 15. NOVEMBER 1910

LEIPZIG

VERLAG VON WILHELM ENGELMANN

1910

Mitteilung an die Herren Mitarbeiter.

Sämtliche Beiträge für das Archiv für Zellforschung, deren Veröffentlichung in deutscher, französischer, englischer und italienischer Sprache erfolgen kann, bittet man an die Adresse des Herrn Privatdozent Dr. **R. Goldschmidt,** Zoologisches Institut, **München,** Alte Akademie zu senden.

Die Herren Mitarbeiter erhalten an *Honorar M 40.—* für den Druckbogen. Überschreitet eine Arbeit den Umfang von 4 Bogen, so wird für den Mehrumfang ein Honorar nicht gewährt.

Den Herren Mitarbeitern werden 40 Sonderdrucke von ihren Abhandlungen und Aufsätzen unberechnet geliefert. Weitere Exemplare stehen auf Wunsch gegen Erstattung der Herstellungskosten und unter der Voraussetzung, daß sie nicht für den Handel bestimmt sind, zur Verfügung.

Die *Manuskripte* sind *nur einseitig beschrieben* und ***druckfertig*** einzuliefern, **d. h. so, daß das Lesen der Korrektur in der Ausmerzung von Satzfehlern besteht, nicht in einer stilistischen oder sachlichen Umarbeitung.** Jedes Einschieben von Worten und ähnliche Änderungen sind mit entsprechenden Kosten verknüpft und sie müssen, wenn dadurch die normalen Korrekturkosten wesentlich erhöht werden, den betr. Herren Autoren zur Last gelegt werden.

Die *Zeichnungen* für Tafeln und Textabbildungen (diese mit genauer Angabe, wohin sie im Text gehören) werden auf *besondern* Blättern erbeten, auch wolle man beachten, daß für eine getreue und saubere Wiedergabe gute Vorlagen unerläßlich sind. Anweisungen für zweckmäßige Herstellung der Zeichnungen mit Proben der verschiedenen Reproduktionsverfahren stellt die Verlagsbuchhandlung den Herren Mitarbeitern auf Wunsch zur Verfügung. Bei photographisch aufgenommenen Abbildungen wird gebeten, die *Negative* bei Absendung des Manuskripts unmittelbar *an die Verlagsbuchhandlung* zu schicken.

Die Veröffentlichung der Arbeiten geschieht in der Reihenfolge, in der sie druckfertig in die Hände der Redaktion gelangen, falls nicht besondere Umstände ein späteres Erscheinen notwendig machen.

Die Korrekturbogen werden den Herren Verfassern von der Verlagsbuchhandlung regelmäßig zugeschickt, und es wird dringend um deren *sofortige Erledigung* und Rücksendung (ohne das Manuskript) an die Verlagsbuchhandlung gebeten. *Von etwaigen Änderungen des Aufenthalts oder vorübergehender Abwesenheit bittet man, die Redaktion oder die Verlagsbuchhandlung* ***sobald als möglich*** *in Kenntnis zu setzen. Bei säumiger Ausführung der Korrekturen hat der Verfasser es sich selbst zuzuschreiben, wenn seine Arbeit etwa für ein späteres Heft zurückgestellt werden muß.*

Redaktion und Verlagsbuchhandlung.

Inhalt des 4. Heftes.

Referate:

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

Inhalt des 3. Heftes.

Referate:

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

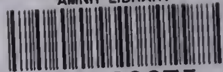
Inhalt des 2. Heftes.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig.

Inhalt des 1. Heftes.

Druck von Breitkopf & Härtel in Leipzig

Archiv fur zel


AMNH LIBRARY
100229675